

**IZABEL CRISTINA PEREIRA VAZ FERREIRA**

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO, FATORES ABIÓTICOS E QUÍMICOS SOBRE  
*Fusarium guttiforme***

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Ciências Agrárias do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Agrárias.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Nilza de Lima Pereira Sales

Montes Claros  
2011

Ferreira, Izabel Cristina Pereira Vaz.

F383e 2011 Estudo epidemiológico, fatores abióticos e químicos sobre *Fusarium guttiforme* / Izabel Cristina Pereira Vaz Ferreira. Montes Claros, MG: ICA/UFMG, 2011.

81 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias, área de concentração em Agroecologia) Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Nilza de Lima Pereira Sales.

Banca examinadora: Adelica Aparecida Xavier, Fernando Rocha da Silva, Nilza de Lima Pereira Sales.

Inclui bibliografia: f. 73-81

1. Fitopatologia - *Fusarium guttiforme*. 2. Ecologia. I. Sales, Nilza de Lima Pereira. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 581.2

**IZABEL CRISTINA PEREIRA VAZ FERREIRA**

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO, FATORES ABIÓTICOS E QUÍMICOS SOBRE  
*Fusarium guttiforme***

**Aprovada em 21 de fevereiro de 2011**

---

Prof.<sup>a</sup> Adelica Aparecida Xavier  
(UNIMONTES)

---

Prof. Fernando Rocha da Silva  
(ICA/UFMG)

---

Prof.<sup>a</sup>. Nilza de Lima Pereira Sales  
Orientadora (ICA/UFMG)

Montes Claros  
2011

**DEDICO**

*Aos meus pais, Marcio Protásio Vaz Ferreira e*

*Maria José P. V. Ferreira.*

*Ao meu noivo Alisson Vinicius de Araujo.*

*Aos irmãos Tereza e Márcio.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus.

Ao meu noivo Alisson Vinicius de Araujo, por ter sido meu amigo e companheiro durante todos os momentos dessa caminhada.

Aos meus pais Maria José Pereira Vaz Ferreira e Marcio Protásio Vaz Ferreira por terem confiado e apostado em mim durante todos esses anos.

Aos meus irmãos Tereza e Márcio pelo carinho e apoio.

À Universidade Federal de Minas Gerais.

Aos professores Aldir de Oliveira Carvalho (*in memoriam*), Margarida Goréte Ferreira do Carmo e Maurício Ballesteiro Pereira, e as novas amigas, Débora, Ligia, Suelen e Leia da UFRRJ.

Ao professor Cândido Alves da Costa, por ter sido meu mentor na compreensão da estatística.

À professora Neide Juth Faria de Oliveira pela amizade e apoio durante a graduação e o mestrado.

À professora e orientadora Dra. Nilza de Lima Pereira Sales pela amizade e confiança.

Aos demais professores e funcionários do ICA/UFMG.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

Ao Programa de Reestruturação e Expansão das Universidades Federais (REUNI).

À CAPES/PROCAD 213/2007 o auxílio financeiro na pesquisa pelo mestrado sanduíche na UFRRJ.

À Coordenação do curso de mestrado em Ciências Agrárias da UFMG.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### CAPITULO 2 – INCIDÊNCIA DE FUSARIOSE DO ABACAXIZEIRO E DESENVOLVIMENTO DE *Fusarium guttiforme* SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE TEMPERATURA EM FOTOPERÍODO

- GRÁFICO 1 –** Incidência de fusariose de quatro propriedades da comunidade de Chapadinha, município de Montes Claros – MG ..... 34
- GRÁFICO 2 –** Temperatura média e umidade relativa do ar entre os meses de outubro e dezembro do ano de 2010..... 34
- GRÁFICO 3 –** Taxa de crescimento de quatro isolados de *Fusarium guttiforme*, em função do tempo de incubação em fotoperíodo de 12 horas e a diferentes temperaturas:  
(A) Taxa de crescimento micelial do isolado PLA 1  
(B) Taxa de crescimento micelial do isolado PLA 2  
(C) Taxa de crescimento micelial do isolado FRU 1  
(D) Taxa de crescimento micelial do isolado FRU 2..... 39
- GRÁFICO 4 –** Número de conídios produzidos por *Fusarium guttiforme*, em diferentes temperaturas de incubação e fotoperíodo de 12 horas..... 40
- GRÁFICO 5 –** Taxa de crescimento micelial de quatro isolados de *Fusarium guttiforme* em função do tempo quando submetidos a diferentes temperaturas e escuro contínuo  
(A) Taxa de crescimento micelial do isolado PLA 1  
(B) Taxa de crescimento micelial do isolado PLA 2  
(C) Taxa de crescimento micelial do isolado FRU 1  
(D) Taxa de crescimento micelial do isolado FRU 2..... 42

### CAPÍTULO 3 – COMPORTAMENTO DE FUSARIUM GUTTIFORME EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE URINA DE VACA E EXTRATO DE BARBATIMÃO

- FIGURA 1 –** Mudanças de abacaxi com sintomas internos de fusariose:  
(A) Apodrecimento estendendo-se a até 100% da base de muda  
(B) Apodrecimento estendendo-se a até 50% da base de muda ..... 64

<b>GRÁFICO 1 –</b>	Diâmetro da colônia de quatro isolados de <i>Fusarium guttiforme</i> , incubados em meio contendo urina de vaca esterelizada em filtro Millipore – UVM.....	60
<b>GRÁFICO 2 –</b>	Diâmetro de colônia de quatro isolados de <i>Fusarium guttiforme</i> , ao sexto dia de incubação, em meio contendo urina de vaca autoclavada – UVA .....	61
<b>GRÁFICO 3 –</b>	Porcentagem de tecido lesionado, em função do tratamento preventivo realizado com diferentes concentrações de urina de vaca.....	63
<b>GRÁFICO 4 –</b>	Efeito das concentrações do extrato de barbatimão sobre massa seca do micélio de <i>F. guttiforme</i> , incubado a 25°C, sob agitação constante, por 7 dias.....	68

## LISTA DE TABELAS

### **CAPITULO 2 – INCIDÊNCIA DE FUSARIOSE DO ABACAXIZEIRO E DESENVOLVIMENTO DE *Fusarium guttiforme* SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE TEMPERATURA EM FOTOPERÍODO**

1 –	Taxa de crescimento micelial (cm) do isolado PLA 1, submetido a diferentes temperaturas e fotoperíodo de 12 horas, durante 144 horas de incubação.....	37
2 –	Taxa de crescimento micelial (cm) do isolado PLA 2, submetido a diferentes temperaturas e fotoperíodo de 12 horas, durante 144 horas de incubação.....	37
3 –	Taxa de crescimento micelial (cm) do isolado FRU 1 submetido a diferentes temperaturas e fotoperíodo de 12 horas durante 144 horas de incubação.....	38
4 –	Taxa de crescimento micelial (cm) do isolado FRU 2 submetido a diferentes temperaturas e fotoperíodo de 12 horas durante 144 horas de incubação.....	38
5 –	Taxa de crescimento micelial (cm) do isolado PLA 1 submetido a diferentes temperaturas em escuro contínuo.....	43
6 –	Taxa de crescimento micelial (cm) do isolado FRU 1 submetido a diferentes temperaturas em escuro contínuo.....	43
7 –	Taxa de crescimento micelial (cm) do isolado PLA 2 submetido a diferentes temperaturas e escuro contínuo durante 144 horas de incubação.....	44
8 –	Taxa de crescimento micelial (cm) do isolado FRU 2 submetido a diferentes temperaturas e escuro contínuo durante 144 horas de incubação.....	44
9 –	Número de conídios produzidos por quatro isolados de <i>Fusarium guttiforme</i> submetidos a diferentes temperaturas de incubação em escuro contínuo.....	46



**CAPÍTULO 3 – COMPORTAMENTO DE *Fusarium guttiforme* EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE URINA DE VACA E EXTRATO DE BARBATIMÃO**

- 1 – Potencial hidrogeniônico (pH) dos meios de cultura tratados com urina de vaca..... 59
- 2 – Diâmetro de micélio (cm) de quatro isolados de *Fusarium guttiforme*, cultivados em meios de cultura contendo urina de vaca filtrada em millipore – UVM..... 59
- 3 – Diâmetro de micélio (cm) de quatro isolados de *Fusarium guttiforme*, cultivados em meios de cultura contendo urina de vaca autoclavada – UVA. 61
- 4 – Influência dos isolados de *F. guttiforme* e do tratamento preventivo com diferentes concentrações de urina de vaca sobre a porcentagem de tecido lesionado pela fusariose, em mudas de abacaxizeiro..... 64
- 5 – Influência dos isolados de *F. guttiforme* e do tratamento curativo com diferentes concentrações de urina de vaca sobre a porcentagem de tecido lesionado pela fusariose, em mudas de abacaxizeiro..... 66
- 6 – Porcentagem de tecido lesionado pela fusariose e aumento da massa fresca em mudas de abacaxizeiro tratadas com concentrações crescentes urina de vaca..... 67
- 7 – Influência dos isolados de *F. guttiforme* e do tratamento preventivo com diferentes concentrações de extrato de barbatimão sobre a porcentagem de tecido lesionado pela fusariose, em mudas de abacaxizeiro..... 69
- 8 – Influência dos isolados de *F. guttiforme* e do tratamento curativo com diferentes concentrações de extrato de barbatimão sobre a porcentagem de tecido lesionado pela fusariose, em mudas de abacaxizeiro..... 70

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FAO -	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
MAPA -	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Pesagro -	Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro
AACPPP -	Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença
ICA/UFMG -	Instituto de Ciências Agrárias da UFMG
IBGE -	Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

## SUMÁRIO

	<b>CAPÍTULO 1 - REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	12
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	12
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	14
2.1	A cultura do abacaxizeiro ( <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.).....	14
2.2	A fusariose do abacaxi.....	15
2.2.1	Dispersão e infecção do patógeno.....	17
2.3	O manejo da fusariose do abacaxizeiro.....	18
2.4	Extrato bruto de barbatimão .....	21
2.5	Urina de vaca.....	23
<b>3</b>	<b>OBJETIVO GERAL.....</b>	25
	<b>CAPITULO 2 – INCIDÊNCIA DE FUSARIOSE DO ABACAXIZEIRO E DESENVOLVIMENTO DE <i>FUSARIUM GUTTIFORME</i> SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE TEMPERATURA EM FOTOPERÍODO.....</b>	26
	<b>RESUMO.....</b>	26
	<b>ABSTRACT.....</b>	27
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	28
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	30
2.1	Avaliação da incidência de fusariose, isolamento e estudo de desenvolvimento e reprodução	30
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	33
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	47
	<b>CAPÍTULO 3 – COMPORTAMENTO DE FUSARIUM GUTTIFORME EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE URINA DE VACA E EXTRATO DE BARBATIMÃO.....</b>	48
	<b>RESUMO.....</b>	48
	<b>ABSTRACT.....</b>	49
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	50
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	53
2.1	Obtenção da urina de vaca.....	53
2.2	Obtenção de extrato bruto de barbatimão.....	54

2.3	Urina de vaca sobre o crescimento micelial <i>F. guttiforme</i> .....	54
2.4	Efeito preventivo da urina de vaca sobre a fusariose do abacaxizeiro.....	55
2.5	Efeito curativo da urina de vaca sobre a fusariose do abacaxizeiro.....	56
2.6	Indução de resistência com urina de vaca à fusariose.....	56
2.7	Influência do extrato bruto de barbatimão sobre o crescimento micelial do fungo <i>F. guttiforme</i> .....	57
2.8	Efeito preventivo e curativo do extrato bruto de barbatimão sobre a fusariose do abacaxizeiro.....	57
2.9	Análise estatística	58
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>58</b>
3.1	Efeito da urina de vaca sobre a fusariose do abacaxizeiro...	63
3.2	Crescimento micelial de <i>Fusarium guttiforme</i> em concentrações de barbatimão.....	68
3.3	Efeito do extrato de barbatimão sobre a fusariose do abacaxizeiro.....	69
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>72</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>73</b>

## CAPÍTULO 1 - REFERENCIAL TEÓRICO

### 1 INTRODUÇÃO

A abacaxicultura é uma atividade muito importante para a economia brasileira. Dados divulgados pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO, 2008), evidenciam que o Brasil ocupa a primeira posição na produção mundial de abacaxi, mesmo apresentando uma produtividade de 30t/ha, abaixo da média de 50t/ha, alcançada por outros países. Entre os estados brasileiros com maior produção, destacam-se Paraíba, Minas Gerais, Pará, Bahia, São Paulo e Espírito Santo (IBGE, 2010). Entretanto, segundo Aquije *et al.* (2010), a produção de abacaxi no Brasil enfrenta sérios problemas fitossanitários, o que tem ocasionado perdas econômicas e limitado a exportação desse produto. Entre as doenças de maior importância para a cultura do abacaxizeiro, destaca-se a fusariose.

A fusariose possui como agente etiológico *Fusarium guttiforme* Nirenberg e O'Donnell. É considerada a doença mais importante para o cultivo de abacaxi no país (VENTURA; ZAMBOLIM, 2002). As mudas utilizadas para formação do abacaxizal ou renovação são brotos obtidos da própria planta. E é dessa forma que o patógeno se disseminou pelo território brasileiro, sendo encontrado em todas as regiões do país (SANTOS *et al.*, 2002). Tradicionalmente, os agricultores da região da Pentáurea trocam entre si as mudas da planta, para renovarem os seus abacaxizais. Esse hábito pode ter auxiliado a rápida disseminação da doença por toda a região.

Para o controle dessa doença, podem ser utilizados vários fungicidas registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), porém possuem apenas ação protetora. Esses produtos químicos, além de aumentarem o custo de produção, poluem o meio ambiente, podendo contaminar quem os aplica e causar impactos à fauna e à microfauna existente no solo.

Os consumidores têm demonstrado uma maior preocupação, não só com os impactos gerados pelo uso de agrotóxicos, mas também com a qualidade dos produtos alimentícios consumidos. As novas regras de mercado que estão sendo aos poucos impostas pelos grandes centros

impulsionam a produção de alimentos orgânicos, o que fez com que tais alimentos recebessem uma maior atenção das instituições públicas de pesquisa e de extensão.

Desde então, as pesquisas, principalmente com o uso de agentes de controle biológico, biofertilizantes e substâncias provenientes de plantas, têm sido objeto de inúmeros trabalhos (BALBI-PEÑA *et al.*, 2006; BETTIOL; GHINI, 2004; BIZI, 2006; ITAKO *et al.*, 2008; SCHWAN-ESTRADA *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2009; SOUZA JUNIOR *et al.*, 2009; STADNIK; TALAMINI, 2004). Esses focam, principalmente, a geração de produtos naturais, menos impactantes ao meio ambiente e ao consumo humano.

Instituições de pesquisa, como a Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (Pesagro), têm instruído os agricultores a utilizarem a urina de vaca e de cabra para o manejo de doenças e como complemento na nutrição de plantas. Há trabalhos na literatura que comprovam a eficácia da urina de vaca no controle de *Alternaria porri* e *Fusarium guttiforme* (ALONSO *et al.*, 1994; SANTANA, 2007).

O barbatimão (*Stryphonodendron adstringens* (Mart.) Coville), uma planta nativa do cerrado brasileiro utilizada na medicina popular, principalmente por auxiliar na cicatrização de ferimentos, vem sendo objeto de estudo em algumas pesquisas para o controle de microrganismos (*Streptococcus mitis*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Escherichia coli*). Pesquisas realizadas por Souza *et al.* (2007) demonstraram que o extrato de barbatimão possui a capacidade de inibir o crescimento bacteriano *in vitro*.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A cultura do abacaxizeiro

Há divergências na literatura quanto à origem do abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merr.). Simão (1998) e Lorenzi e Matos (2008) afirmam que o *Ananas comosus* é originário do Brasil Central, difundindo-se posteriormente para a América Central. Contudo Cabral *et al.* (2004) coletaram germoplasmas na Venezuela e na Guiana Francesa, reforçando a hipótese de um centro de origem do *Ananas comosus* ao norte do rio Amazonas.

O abacaxizeiro pertence ao grupo das monocotiledôneas, família Bromeliaceae, a qual pode ser dividida em dois grupos, considerando os seus hábitos (CABRAL *et al.*, 2004; REINHARDT, 2007). Segundo Simão (1998) e Cabral *et al.* (2004), o primeiro grupo compreende as plantas de hábitos epífitas; o segundo grupo compreende as espécies de crescimento terrestre, cujas raízes são responsáveis por absorverem nutrientes diretamente do solo, como o gênero *Ananas* sp.. Dentre as bromélias, a espécie mais cultivada é o *Ananas comosus*

É uma planta herbácea, com sistema radicular fasciculado superficial. As suas folhas são esverdeadas, canaliculadas com e/ou sem espinhos nas margens, organizadas em forma de roseta na base da planta (LORENZI; MATOS, 2008; SILVA, 2001). A espécie produz brotações (mudas), que podem ser nomeadas da seguinte forma: coroa, filhote, filhote-rebento, rebento-lateral e rebento enraizado ou rebentão (MANICA, 2000). O abacaxi é um fruto composto, formado de 100 a 200 frutílos, que se unem após a fecundação. Esses frutílos podem ser de cor vermelha, laranjada, amarela, verde e se juntam ao redor de um eixo central, que possui comprimento entre 30 e 60 cm, formando uma infrutescência do tipo sorose (LORENZI; MATOS, 2008).

É uma cultura perene, sendo que as variedades mais plantadas no Brasil são Smooth cayenne e Pérola. O ciclo de cultivo do abacaxi pode ser dividido em três fases, sendo a primeira vegetativa, a segunda reprodutiva e a última propagativa (LIMA *et al.*, 2002).

Reinhardt (2007) descreve as três fases. Em conformidade com esse autor, a fase vegetativa se resume ao estabelecimento da cultura após o plantio, ocorrendo o enraizamento e o crescimento vegetativo (folhas), durando de 8 a 12 meses. A fase reprodutiva compreende a emissão do pendão floral, fecundação de todas as flores e formação do fruto, podendo durar de 13 até 18 meses. A fase propagativa se inicia com a emissão e a formação das mudas (REINHARDT, 2007).

A duração do ciclo de produção depende do tipo de muda utilizada. Os brotos do tipo filhote se formam entre 4 e 10 meses; os do tipo rebentão, entre 2 e 6 meses (REINHARDT, 2007).

## **2.2 A fusariose do abacaxi**

Essa é a mais importante doença para a cultura do abacaxi. Causa danos de alta intensidade (cerca de 80%) nos frutos (BORRÁS *et al.*, 2001). O agente causador é o fungo *Fusarium guttiforme*. A doença também é conhecida por gomose, devido à exsudação de seiva, observada na base do fruto, em caules, folhas e nos frutinhos do abacaxi atacado pelo patógeno (SILVA, 2001; VENTURA; ZAMBOLIM, 2002).

O gênero *Fusarium* possui ampla distribuição geográfica, sendo encontrado em quase todos os ambientes. O fungo *F. guttiforme* pertence à família *Tuberculariaceae* (KIMATI *et al.*, 2005). A espécie produz macroconídios hialinos, caracterizados por possuírem células basais e apicais diferenciadas, que são utilizadas na taxonomia das espécies. O gênero também apresenta microconídios, com diferentes formas e clamidósporos, que podem estar presentes ou ausentes (VENTURA, 2000).

De acordo com Ventura e Zambolim (2002), o fungo causador da fusariose do abacaxi possui especificidade no gênero *Ananas* sp.. Isso pôde ser comprovado por Ventura (1993), que, após inocular mudas de abacaxizeiro de cv. Pérola, com diferentes isolados da espécie, comprovou que apenas os oriundos de abacaxi tiveram a patogenicidade comprovada. Esse autor realizou testes para a diferenciação filogenética (DNA) e virulência do fungo. Isolados provenientes de abacaxizeiro foram classificados como uma população distinta das demais existentes dentro dessa espécie, sendo



nomeada da seguinte forma: *Fusarium subglutinans* (WOLLENWEBER; REINKING) Nelson, Toussoun e Marasas f. sp. *ananas* Ventura, Zambolim e Gilbertson.

*Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* também foi descrito por Nirenberg e O'Donnell, com a denominação de *Fusarium guttiforme*, Esses autores sugerem que esse fungo seja classificado como uma nova espécie (JACOBS *et al.*, 2010).

De acordo com Alves (2006), o fungo permanece nas folhas do abacaxi ou em outra planta hospedeira, de forma epífita. Não produz clamidósporos, o que resulta em baixa capacidade competitiva do fitopatógeno (ALVES, 2006).

Doohan *et al.* (2003) relataram que a temperatura, a disponibilidade de água, a aeração e a luz são os fatores climáticos que mais afetam a produção de inóculos de *Fusarium* sp.. Segundo os autores, há inúmeros relatos de como as espécies respondem, de forma diferenciada, às variações ambientais, principalmente, de temperatura e umidade.

Alguns estudos demonstraram que as espécies de *Fusarium* sp., como, por exemplo, *F. graminearum* (Schwabe) e *F. culmorum* (W.G. Sm.) Sacc., se diferenciaram quanto à temperatura ótima para o crescimento em meio de cultura BDA (BRENNAN *et al.* 2003; COOK; CHRISTEN, 1976; PETTITT *et al.*, 1996). Castellá *et al.* (1999) relataram que a temperatura ótima de crescimento para *F. subglutinans* (Wollenw. & Reinking) P.E. Nelson, Toussoun & Marasas foi entre 15-25°C, em meio de cultura à base de milho e de arroz.

Coutinho (2010) demonstrou que isolados *F. guttiforme*, provenientes de três estados brasileiros, podem apresentar diferenças, quando expostos a ambientes com variações de luminosidade, de substrato e de temperatura. A combinação entre luminosidade alternada ou contínua e meio de cultura BDA promoveu a maior distinção entre os isolados do fungo.

Segundo Leach (1967), a luz estimula a reprodução assexuada e sexuada na maioria dos fungos e esse efeito se correlaciona à nutrição e à temperatura. Dhingra e Sinclair (1995) admitem que fungos sensíveis à luz esporulam, quando expostos à luz contínua, entretanto aqueles chamados

esporuladores diurnos dependem de um período escuro, seguido de um período claro para esporularem.

Santos *et al.* (2002) salientam que são poucos os estudos sobre o comportamento do *Fusarium* do abacaxi e são necessárias pesquisas para a utilização de isolados nos programas de melhoramento de plantas.

### **2.2.1 Dispersão e infecção do patógeno**

Apesar do gênero *Fusarium* sp., reconhecidamente, caracterizar-se como sendo fungo de solo e ser causador de infecção por meio dele ou a partir de restos culturais doentes incorporados ao solo (FERREIRA, 1989), no caso do *F. guttiforme*, essa forma de infecção não é tão importante quanto nas demais espécies. Segundo Ventura e Zambolim (2002), os plantios homogêneos e em mesma fase de desenvolvimento com grupos casualizados de plantas vizinhas e doentes revelam que há uma dispersão infecciosa aleatória em frutos. Esses autores também admitem que as plantas podem ser infectadas por meio de ferimentos causados durante o seu desenvolvimento.

O transporte do fungo de uma região para outra ocorre principalmente por meio de mudas contaminadas, o que torna o homem o maior agente disseminador da doença. Há, ainda, formas secundárias de propagação do patógeno, que são pelo vento, pelas chuvas e pelos insetos (SILVA, 2001). Conforme Cunha (2003), aproximadamente 40% das mudas provenientes de plantações já estabelecidas podem ser infectadas e, dessas, 20% morrem antes de emitir inflorescência. No fruto, a incidência pode ser ainda maior, chegando a 80%.

O ponto crítico para a infecção da planta de abacaxi com fusariose é durante a antese. Os conídios podem ser transportados pelo vento e se alojar na roseta foliar, infectando a inflorescência na fase inicial (VENTURA; ZAMBOLIM, 2002).

A infecção de mudas ocorre quando essas ainda estão aderidas à planta-mãe, com frutos doentes (VENTURA; ZAMBOLIM, 2002). As plantas infectadas, quando aderidas à planta-mãe, podem apresentar estágios

diferentes da doença em relação às mudas infectadas após o plantio (PISSARRA *et al.*, 1979).

### 2.3 O manejo da fusariose do abacaxizeiro

Matos e Cabral (2005) sugerem um manejo integrado para o controle da doença, que deve iniciar pela aquisição de mudas sadias e, se possível, a utilização de material resistente. Os autores indicam que se faça o monitoramento da doença integrado ao manejo da doença, avaliando-se a porcentagem de incidência da doença em 500 plantas por hectare. Nas áreas que apresentarem incidência igual ou maior do que 1%, durante o ciclo vegetativo, deve-se realizar a aplicação de fungicidas, a cada oito dias, durante o período compreendido entre a emissão e fechamento das flores (OLIVEIRA *et al.*, 2004).

Estudos realizados por alguns pesquisadores evidenciaram que o uso constante de fungicidas sistêmicos, como benomyl, induziu a ocorrência de populações de *F. guttiforme* resistentes a esse grupo de produtos químicos (SANTOS *et al.*, 2002).

Em conformidade com Ventura *et al.* (2006?), a seleção de variedades resistentes é a alternativa mais eficiente no manejo da fusariose. Atualmente, estão disponíveis para comercialização mudas de materiais resistentes, como da cultivar Vitória, lançada em 2006 pelo Instituto Capixaba de Pesquisa e Extensão Rural e a Embrapa Mandioca e Fruticultura.

A utilização intensiva de agrotóxicos pode ser altamente impactante para o meio ambiente. Os agrotóxicos ocasionam desequilíbrio biológico do sistema, com eliminação de inimigos naturais e competidores dos fitopatógenos. Além disso, são responsáveis ainda pela ressurgência de doenças e pelo aparecimento de novas doenças (CAMPANHOLA *et al.*, 1998).

Alguns autores defendem que o desenvolvimento sustentável está intimamente ligado à agroecologia e à prática de uma agricultura de base ecológica. Assim, Gliessman (2001) admite que a conversão de um sistema convencional (utilização de variedade melhorada, defensivo químico e intensa mecanização) para sistemas de produção de bases agroecológicas,

pode ser estratificada em três níveis, os quais são organizados da seguinte forma: no primeiro nível, ocorre a racionalização do uso de insumos agrícolas; no segundo nível, a substituição de insumos e práticas convencionais; no terceiro nível, o ambiente redesenhado funciona com base no conjunto de processos ecológicos característicos de cada região.

Costabeber (2006) considera que os estudiosos, técnicos e militantes baseiam as suas intervenções e se motivam na transição agroecológica. As pesquisas que são conduzidas para controle alternativo de doenças em plantas, realizam o elo entre os níveis 1 e 2, apresentados por Gliessman (2001).

As plantas são importantes fontes de substâncias biologicamente ativas, ou seja, substâncias que apresentam alguma atividade sobre o metabolismo de um organismo vivo. Na área fitossanitária, os produtos naturais podem apresentar três atividades principais: antimicrobianos, ou seja, com atividade direta contra os fitopatógenos, pois inibem o crescimento micelial e a germinação de esporos; indutores de resistência, pois contêm moléculas bioativas, capazes de induzir ou ativar os mecanismos de defesa da planta e de bioestimulantes do crescimento da planta (STADNIK; TALAMINI, 2004).

A indução de resistência envolve a ativação de mecanismos de defesa em uma planta, por meio de tratamentos com agentes bióticos e/ou abióticos. A proteção induzida de plantas é realizada, aplicando-se um tratamento inicial (substância ou organismo indutor) e, em seguida, inoculando-se o patógeno. Assim, pode-se observar que as mudanças específicas ocorridas no metabolismo da planta, envolvendo síntese e acúmulo de substâncias, podem ter sido estimuladas pelo tratamento indutor (BERGAMIM FILHO, 1997).

Entre as plantas com substâncias que possuem atividade biológica antimicrobiana e elicitora, estão o alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), a manjerona (*Origanum manjerona* L.), a alfavaca (*Ocimum basilium* L.), o mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.), a babosa (*Aloe vera* Mill), a mil-folhas (*Achillea millefolium* L.), o orégano (*Origanum vulgare* L.), dentre outras (SCHWAN-ESTRADA *et al.*, 2000).

Bizi (2006) estudou alternativas de controle para o mofo-cinzeno em mudas de eucalipto. Dentre as técnicas estudadas, estão os extratos de plantas. Com exceção dos extratos de *Gingko biloba* L. e de *Corymbia citriodora* (Hook.) K.D.Hill & L.A.S.Johnson, que não diferiram estatisticamente da testemunha, os extratos de *Eucalyptus globulus* Labill., *Ocimum gratissimum* L. e *O. basilicum* controlaram a doença. *Mentha villosa* Becker foi o extrato que apresentou como resultado o menor valor de severidade da doença, controlando 52,91% da mesma.

Balbi-Peña *et al.* (2006) testaram extrato aquoso de cúrcuma (1 e 10%), curcumina (50 e 100mg/l), acibenzolar-s-metil (ASM) (25mg de i.a./L), oxicloreto de cobre (1.100mg de i.a./L) e azoxystrobin (80mg de i.a./L) para controle de pinta preta em tomateiro, causado por *Alternaria solani*. No trabalho, os tratamentos foram comparados de acordo com Área Abaixo da Curva de Progresso da doença, representado pela sigla (AACPPP). Os extratos aquosos de cúrcuma 1% e curcumina 50mg.L<sup>-1</sup> foram tão eficientes quanto o controle de oxicloreto de cobre, que apresentou valores de 1,03, 1,09 e 1,08cm<sup>2</sup>, respectivamente na AACPPP.

Silva *et al.* (2008) verificaram que os extratos brutos das plantas cana-de-macaco (*Costus pisonis* Lindl.), mil-folhas (*Achillea millefolium* L.) e boldoda-terra (*Plectranthus barbatus* Andrews) inibiram o crescimento micelial de fungos fitopatogênicos do gênero *Colletotrichum* sp..

Itako *et al.* (2008) estudaram o efeito dos extratos aquosos de *Achillea millefolium*, de *Artemisia camphorata* Vill., de *Cymbopogon citratus* Stapf. e de *Rosmarinus officinalis* sobre o crescimento, a esporulação e a germinação de esporos de *Alternaria solani* e também sobre a severidade à pinta preta em tomateiro. Esses autores observaram que o crescimento micelial do fungo, em meio contendo os extratos das plantas acima citadas, foi maior ou igual ao da testemunha. Já a esporulação e a germinação de esporos decrescem, à medida que se aumenta a concentração de cada extrato no meio. Para a severidade, os pesquisadores sugerem que houve translocação dos extratos de um par de folhas para o outro, diminuindo o número de lesões no mesmo.

Em testes realizados para controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., Silva *et al.* (2009) e Souza Junior *et al.* (2009) constataram que o óleo essencial de alfavaca-cravo inibiu a germinação de esporos e o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* isolado de maracujazeiro.

## 2.4 Extrato bruto de barbatimão

O barbatimão, *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, é uma espécie pertencente à família Fabaceae - Mimosoidae, e é nativa do cerrado brasileiro. Segundo Lorenzi e Matos (2002), o barbatimão é utilizado, na medicina caseira, para o tratamento de diarreia, hemorroidas, para limpeza de ferimentos, gota e hemorragias.

Fenner *et al.* (2006) realizaram um levantamento bibliográfico e etnobotânico para listar quantas e quais plantas são utilizadas na medicina popular para curar doenças provocadas por fungos, na qual consta o *S. adstringens*. A grande utilização dessa planta faz que ela esteja presente na primeira, na segunda e na quarta edições da Farmacopéia Brasileira (BRANDÃO *et al.*, 2006). Segundo os estudos realizados por Teixeira *et al.* (1990), os teores de tanino na casca de barbatimão variam em torno de 10,5 a 27,4%.

Na antiguidade, os extratos de plantas ricas em tanino eram utilizados para curtir peles de animais, devido à sua característica de complexação e polimerização com proteínas, o que confere impermeabilidade e rigidez às peles. Eram utilizados ainda em produtos farmacêuticos e biocidas adesivos, resinas, na fabricação de papéis compósitos, combustíveis, etc. (JORGE *et al.*, 2001). Os autores também sustentam que os taninos condensados atuam como inibidores celulolíticos, produtores de enzimas extracelulares que degradam as moléculas de celulose, bloqueando ou atrasando a sua ação, por meio da complexação com essas enzimas.

Segundo Vasconcelos *et al.* (2004), já foram identificados os seguintes compostos químicos no barbatimão: taninos, flavonoides, terpenos, estilbenos, esteróides, inibidores de tripsina e de protease. Os taninos são produtos do metabolismo secundário das plantas e podem ser encontrados

em várias partes dos vegetais, como raízes, folhas, cascas, frutos e madeiras (ORLANDO, 2005). Havorth (1981) citado por Reed (1995), define os taninos como compostos fenólicos de peso molecular suficientemente elevado, variando de 500 a 20.000 Dalton. As moléculas com peso menor são solúveis em água. Possuem grupos hidroxilos ou outros grupos adequados que possibilitam a formação de complexos estáveis com proteínas e outras macromoléculas.

Alguns estudos comprovaram, por meio de teste *in vitro*, a ação bactericida do extrato de barbatimão sobre *Streptococcus mitis*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosas*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Escherichia coli*, (SOARES *et al.*, 2008 SOUZA, *et al.*, 2007). Esse potencial bactericida tem sido atribuído à propriedade dos taninos de complexarem proteínas (SIMÕES *et al.*, 2004).

Marques *et al.* (2002) realizaram estudos com extratos da folha, do botão floral e do fruto de pequi ( *Caryocar brasiliense* Camb.) sobre a germinação de esporos dos fungos *Botrytis cinerea* Pers., *Colletotrichum truncatum* (Schwein.) Andrus & W.D. Moore e *Fusarium oxysporum* Schltdl.. Esses autores verificaram a presença de substâncias polares, o que os mesmos consideram que possa ser tanino e que a germinação dos esporos dos fungos não foi inibida pelos mesmos.

## 2.5 Urina de vaca

Devido à conscientização dos problemas ocorridos ao meio ambiente após a adoção do uso de agrotóxicos, a sociedade vem exigindo a redução de seu uso. Desde então, as pesquisas têm testado diversos produtos, muitos deles já utilizados pelos agricultores em décadas passadas antes da descoberta e da fabricação dos agrotóxicos hoje utilizados (BETTIOL; GHINI, 2004).

Carmo e Correa (2006) afirmam que fazem parte dos biofertilizantes todos os produtos ou efluentes produzidos por digestão anaeróbia ou mesmo aeróbia, de esterco puros ou de misturas com resíduos orgânicos e sais. Algumas instituições, como a Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado

do Rio de Janeiro (Pesagro), têm estudado a utilização da urina de vaca e cabra na agricultura.

De acordo com SEMANA DO FAZENDEIRO (2006), as urinas de vaca e de cabra podem ser utilizadas como fertilizante e fungicida, no combate à fusariose do abacaxi. Broek *et al.* (2002) e Bettiol (2006) explicam que os efeitos fungistáticos atribuídos à urina de vaca são devido à sua composição, que apresenta 90% de água e 10% de nutrientes, além de compostos antimicrobianos e substâncias que induzem a resistência ao patógeno. Segundo Pesagro (1994), a urina de vaca contém substâncias, como ureia, amônia, pirocatecol, pirocatequina, urocromo, urobilina, urobilinogênio, urinod, ácido úrico, ácido hipúrico, creatina, alantoina, guanina, xantina, hipoxantina, adenina, albumina, amilase, pepsina, tripsina, lípase, ácido oxálico, ácido láctico, ácido indolacético, aminoácidos, carboidratos, vitaminas, ácidos graxos voláteis e compostos orgânicos fosforilados. Dentre todas as substâncias acima mencionadas, esses autores acreditam que o pirocatecol seja responsável pela ação antifúngica da urina de vaca.

Alonso *et al.* (1994) testaram o efeito da urina de vaca sobre o crescimento do *Fusarium guttiforme*, *in vitro*, e observaram que a urina inibe o crescimento micelial do mesmo. Os autores observaram diferença entre a urina de vaca filtrada em filtro Millipore e a autoclavada, e constataram que o aumento da temperatura eleva o poder inibitório desse produto. Por outro lado, Martelleto (1995) avaliou o efeito da urina de vaca sobre a evolução da fusariose em folha destacada e mudas de abacaxi e verificou que o tratamento não foi eficaz no manejo da doença.

Em estudos para controle da mancha púrpura da cebolinha, causada pela *Alternaria porri* (Ellis) Cif., a urina de vaca teve eficiência semelhante ao do fungicida azoxystrobin (SANTANA, 2007).

Castro *et al.* (1991) testaram o efeito de um biofertilizante simples, produzido a partir de digestão anaeróbia do esterco bovino, no crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente etiológico da antracnose do maracujá, no crescimento de *Cladosporium* sp., agente etiológico da mancha-deprimida também do maracujá, de *Thielaviopsis paradoxa* (De Seynes) Höhn., causador da podridão do abacaxi e de *Penicillium digitatum* (Pers.)



Sacc., causador do mofo-verde dos citros e concluíram que os tratamentos com o biofertilizante inibiram o crescimento de todos os patógenos estudados.

Broek *et al.* (2002) utilizaram três concentrações de urina de vaca: 10, 20 e 30%, no controle de oídio em quiabeiro. Os resultados mostraram que os tratamentos com o produto diminuíram o índice de severidade da doença, sendo que a urina de vaca a 30% foi o que melhor se destacou, onde a doença apresentou apenas 2,4% de severidade na quarta avaliação. Xavier (2007) verificou que a urina de vaca, o leite cru de vaca, os vinagres de vinho tinto são capazes de reduzir a severidade de oídio em abóbora.

Ferreira (2008) verificou que a urina de vaca armazenada por dois anos, possui efeito fungicida sobre *F. guttiforme in vitro*. Os tratamentos nas concentrações de 5 e 10% foram capazes de inibir a germinação de esporos em 30% e o crescimento micelial do fungo totalmente.

### **3. OBJETIVO GERAL**

O objetivo geral desta pesquisa foi avaliar a incidência da fusariose do abacaxizeiro em propriedades rurais, na região do Pentáurea, Montes Claros-MG e o efeito da temperatura, do fotoperíodo, do potencial do extrato bruto de barbatimão e da urina de vaca sobre o manejo do *Fusarium guttiforme in vitro* e da fusariose do abacaxi.

## CAPITULO 2 – INCIDÊNCIA DE FUSARIOSE DO ABACAXIZEIRO E DESENVOLVIMENTO DE *Fusarium guttiforme* SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE TEMPERATURA EM FOTOPERÍODO

### RESUMO

No município de Montes Claros-MG, a produtividade de abacaxizeiro é reduzida, principalmente devido à sanidade das plantas. Dessa forma, objetivou-se, nesta pesquisa, quantificar a incidência de fusariose em quatro propriedades do município de Montes Claros – MG e a influência da temperatura e do fotoperíodo no desenvolvimento dos isolados de *Fusarium guttiforme*, provenientes das áreas de cultivo. Para avaliar a incidência na região, foram selecionadas quatro propriedades que desenvolvem a atividade. Em cada propriedade, foram amostrados 10 pontos, analisando-se 500 plantas por propriedade. Dessas áreas de cultivo, foram coletados e identificados quatro isolados de *F. guttiforme*, para estudo em condições controladas. Com cada isolado, montaram-se quatro experimentos, onde se avaliou a taxa de crescimento em ambientes com diferentes temperaturas em fotoperíodo de 12 horas ou escuro contínuo, durante 144 horas. Também se avaliou o número de conídios produzidos por cada isolado, em função da temperatura de incubação em cada uma das condições de luminosidade acima citadas. Todas as propriedades estudadas apresentaram níveis de incidência, acima de 10%, chegando a 64,4% a maior incidência na propriedade 2. Os isolados fúngicos apresentam maior taxa de crescimento e produção de conídios, quando cultivados em temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas.

**Palavras-chave:** Caracterização. Taxa de crescimento micelial. Incidência. Luminosidade.

## CHAPTER 2 - THE IMPACT OF FUSARIUM OF THE PINEAPPLE AND DEVELOPMENT OF *Fusarium guttiforme* UNDER DIFFERENT TEMPERATURE CONDITIONS IN PHOTOPERIOD

### ABSTRACT

In the city of Montes Claros, Minas Gerais State, the productivity of pineapple is reduced mainly due to the health of plants. Thus, the aim in this research was to quantify the incidence of fusarium wilt in four properties in the city of Montes Claros, Minas Gerais State, and the influence of temperature and photoperiod on the development of isolated of the *Fusarium guttiforme*, obtained from areas of cultivation. To evaluate the incidence in the region, they were selected four properties that develop the activity. In each property, they were sampled 10 points, analyzing 500 plants per property. These growing areas were collected and identified four isolates of *F. guttiforme* to study in controlled conditions. With each isolate, it set up to four experiments, where it was evaluated the growth rate in environments with different temperatures in 12 hours photoperiod or continuous darkness for 144 hours. It was also assessed the number of conidia produced by each isolate, due to the incubation temperature in each of the lighting conditions mentioned above. All properties studied showed levels of incidence above of 10% to 64.4%, the highest incidence in the property 2. The isolated fungi showed higher growth rate and conidial production when grown at 25°C and a photoperiod of 12 hours.

**Keywords:** Characterization. Mycelial growth rate. Incidence. Luminosity.

## 1 INTRODUÇÃO

A produção de abacaxi, além de apresentar alta rentabilidade, ainda possui uma grande importância social. Pois a atividade requer intensiva mão de obra rural (CUNHA, 2003). O Brasil possui uma produtividade média de 30t/ha, abaixo da média de 50t/há, alcançada por outros países. Por outro lado, o país é o maior produtor de abacaxi do mundo (FAO, 2008). Entre os estados com maior produção, destacam-se Paraíba, Minas Gerais, Pará, Bahia, São Paulo e Espírito Santo (IBGE, 2010).

Um dos fatores que interferem na produtividade do abacaxi, nas comunidades rurais da região do Pentáurea, no município de Montes Claros e também em outras regiões do país, é a sanidade das plantas. Os agricultores dessa região explicam que, antes de iniciarem os primeiros relatos da fusariose, entre as décadas de 1960-1970, a demanda do comércio local era suprida pelos abacaxizais do Pentáurea. Provavelmente, foi por meio de mudas infectadas que a doença se disseminou rapidamente por toda a região do Pentáurea, fazendo com que vários agricultores abandonassem essa atividade agrícola. Cunha (2003) descreve que, em algumas regiões produtoras de abacaxi, aproximadamente 40% das mudas provenientes de plantações podem estar infectadas e, dessas, 20% morrem antes de emitir a inflorescência.

A fusariose do abacaxizeiro é causada pelo fungo *Fusarium guttiforme* e pode ocasionar perdas de até 80% na produção (VENTURA; ZAMBOLIM, 2002). O fungo pertencente à família *Tuberculariaceae* e apesar de não produzir clamidósporos, pode permanecer no ambiente em folhas de abacaxizeiro na forma epífita (KIMATI *et al.*, 2005). Segundo estudos realizados por Alves (2006), a sobrevivência do *F. guttiforme* no solo pode variar, conforme a porcentagem de matéria orgânica existente, contudo esse fungo não permanece por mais de quatro meses no solo sem que haja um hospedeiro.

A caracterização do comportamento dos fungos *in vitro* fornece informações importantes para o adequado cultivo e a produção em quantidade satisfatória de inóculos viáveis. Santos *et al.* (2002) salientam que são poucos os estudos sobre o comportamento desse patógeno e que são

necessárias pesquisas para a utilização de isolados nos programas de melhoramento de plantas.

Coutinho (2010) demonstrou que isolados *F. guttiforme*, provenientes de três estados brasileiros, podem apresentar diferenças, quando expostos a ambientes com variações de luminosidade, de substrato e de temperatura. A combinação entre luminosidade alternada ou contínua e meio de cultura BDA promoveu a maior distinção entre os isolados do fungo.

Em conformidade com Leach (1967), a luz estimula a reprodução assexuada e sexuada na maioria dos fungos e esse efeito se correlaciona à nutrição e à temperatura. Embora a utilização de luz com comprimento de onda na faixa do ultravioleta (UV) ou próximas dela possa induzir a esporulação dos fungos, as dosagens excessivas podem inibir a germinação e a esporulação desses microrganismos.

Dhingra e Sinclair (1995) admitem que fungos sensíveis à luz esporulam, quando expostos à luz contínua, entretanto aqueles chamados esporuladores diurnos dependem de um período escuro, seguido de um período claro para esporularem.

Doohan *et al.* (2003) relatam que a temperatura, a disponibilidade de água, a aeração e a luz são os fatores ambientais que mais afetam a produção de inóculo de *Fusarium*. Alguns estudos demonstraram que isolados de duas espécies desse gênero (*F. graminearum*, *F. culmorum*) se distinguem, quanto à temperatura ótima para crescimento em meio de cultura feito a partir de batata, dextrose e ágar (BRENNAN *et al.*, 2003; COOK; CHRISTEN, 1976; PETTITT *et al.*, 1996). Já Castellá *et al.* (1999) relataram uma temperatura ótima de crescimento para *F. subglutinans* entre 15-25°C em meio de cultura feito a partir de milho e de arroz.

Dessa forma, objetivou-se, nesta pesquisa, quantificar a incidência de fusariose em quatro propriedades do município de Montes Claros – MG e a influência da temperatura e do fotoperíodo no desenvolvimento dos isolados de *Fusarium guttiforme*, provenientes das áreas de cultivo.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Avaliação da incidência de fusariose, isolamento e estudo de desenvolvimento e reprodução

Para realização desta pesquisa, selecionaram-se quatro propriedades na comunidade rural de Chapadinha, no município de Montes Claros – MG, onde se cultiva abacaxi há mais de 20 anos consecutivos, em área naturalmente infestada por fusariose.

As áreas de cultivo de abacaxi se encontravam com plantas em fase reprodutiva e propagativa. Os cultivos são feitos do tipo sequeiro; não são realizados controles de pragas e doenças, apenas havendo o controle de plantas daninhas, por meio de capina manual.

A quantificação da incidência da doença em cada propriedade foi realizada por meio do levantamento do número de plantas doentes, onde se empregou a metodologia proposta por Matos e Cabral (2005). Foram avaliadas 500 plantas por hectare. Para tanto, realizou-se caminhamento em zigue-zaque, amostrando-se 10 pontos, onde nos quais se avaliaram 50 plantas por ponto. Consideraram-se como plantas doentes aquelas que apresentavam pelo menos um dos seguintes sintomas: exsudação de goma, curvatura do ápice, encurtamento do talo, formato de taça, alteração da roseta foliar, morte do ápice do talo e enfezamento. Os dados de incidência foram expressos em porcentagem de plantas com sintomas.

Plantas de abacaxi com sintomas de fusariose foram coletadas nas propriedades estudadas e levadas ao Laboratório de Fitopatologia do Instituto de Ciências Agrárias/UFMG. No laboratório, realizou-se o isolamento, o cultivo e o teste de patogenicidade dos isolados de *F. guttiforme*, oriundos de folhas e frutos (ALFENAS; MAFIA, 2007; SANTOS *et al*, 2001b).

Para isso, folhas e frutos foram lavados em água com detergente líquido e secos em temperatura ambiente. A seguir, na borda do tecido lesionado, retiraram-se fragmentos de aproximadamente 0,5 cm<sup>2</sup>, os quais foram imersos em solução de álcool a 70%, por 30 segundos, seguidos de imersão em solução de hipoclorito de sódio 2%, por 1 minuto. Em seguida, foram posteriormente lavados em água destilada estéril, por três vezes

consecutivas. Após ter eliminado o excesso de umidade, os fragmentos foram colocados em placas de Petri, de 9 cm de diâmetro, contendo meio de cultura BDA (Batata, Dextrose e Ágar) e incubados a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas. Todos os procedimentos foram realizados em câmara de fluxo laminar, sob condições assépticas. Após o desenvolvimento de colônias típicas de *Fusarium*, essas foram transferidas para placas de Petri contendo meio BDA e cultivadas nas condições descritas anteriormente.

Assim, foram obtidos e identificados os isolados de *Fusarium guttiforme*, adotando-se a seguinte denominação: isolados provenientes de folhas (PLA 1 e PLA 2) e isolados provenientes de frutos (FRU 1 e FRU 2), totalizando-se 4 isolados (NELSON *et al.*, 1994).

Após o isolamento e a identificação dos quatro isolados, retirou-se uma cultura monospórica a partir de cada isolado. Para isso, uma amostra de cultura esporulada de cada isolado foi depositada em um tubo de ensaio contendo 10 mL de água destilada estéril, que, após agitação, foi submetida a um processo de diluição seriada (4 vezes). Uma alíquota contendo 1 mL dessa suspensão diluída foi colocada sobre a superfície de placas de Petri contendo meio de cultura ágar-água (20%), as quais foram acondicionadas por 9 horas em incubadora a uma temperatura constante de  $25^\circ\text{C}$  sobre regime de luz. Após esse período e constatada a emissão do tubo germinativo dos conídios, isolou-se um conídio no campo de visão da objetiva do microscópio óptico. Esse fragmento de meio contendo o conídio foi transferido a um tubo de ensaio contendo meio de cultura BDA e incubado a uma temperatura constante de  $25^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas. Após 15 dias, repicaram-se as culturas desenvolvidas para placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo meio BDA. A partir das culturas monospóricas de cada isolado, realizou-se o teste de patogenicidade, conforme metodologia descrita por Santos *et al.* (2002). Como todas as colônias desenvolvidas foram patogênicas em teste preliminares, selecionaram-se, para esta pesquisa, culturas dos isolados PLA 1, PLA 2, FRU 1 e FRU 2 de *F. guttiforme*.

A caracterização dos quatro isolados, quanto à taxa crescimento micelial e à produção de conídios foi realizada, submetendo-se os mesmos a

diferentes temperaturas, com fotoperíodo ou no escuro, conforme metodologia a seguir.

Para tanto, conduziram-se oito experimentos, dois experimentos com cada isolado (um sob fotoperíodo de 12 horas e outro no escuro). Em cada experimento, o delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x6, 3 temperaturas (20, 25 e 30 °C) e 6 períodos de incubação (24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas), com 3 repetições cada, totalizando-se 54 parcelas. Cada parcela foi composta por uma placa de Petri, contendo meio de cultura BDA e um disco da colônia dos isolados, com 0,7 cm de diâmetro.

Em quatro experimentos, as incubadoras foram reguladas nas temperaturas descritas e ajustou-se a luminosidade para um fotoperíodo de 12 horas. Assim, cada isolado foi incubado em diferentes temperaturas e fotoperíodo de 12 horas. Nos outros quatro experimentos, testaram-se as mesmas temperaturas, ajustando-se a incubadora para escuro contínuo, sendo os isolados cultivados no escuro.

Durante um período de seis dias de incubação, mediram-se, a cada 24 horas, os diâmetros das colônias em dois eixos ortogonais. A partir dos diâmetros médios, determinou-se a taxa de crescimento micelial, por meio da equação:

$$\text{Taxa de crescimento micelial (cm)} = \text{diâmetro atual} - \text{diâmetro anterior}$$

Para avaliar a quantidade de conídios produzidos por cada isolado, utilizou-se metodologia proposta por Martelleto (1995), ao final de cada experimento, retiraram-se dois discos com micélio, de 0,7 cm de diâmetro, das bordas da colônia, de cada repetição. Os discos foram então transferidos a tubos de ensaio, contendo 20 mL de água destilada estéril, submetidos à agitação para promover o desprendimento dos conídios. Contou-se, então, o número de macroconídios e microconídios em suspensão, utilizando-se uma câmara tipo Neubauer e um microscópio óptico.

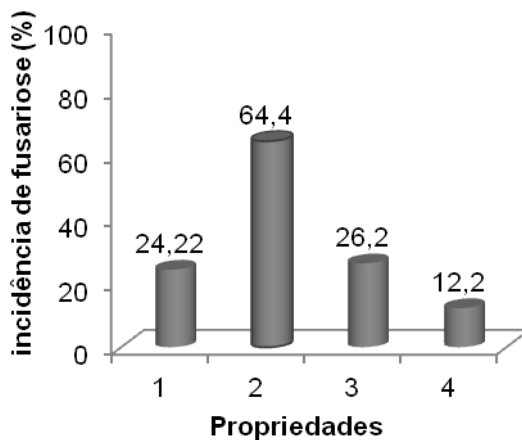
Para análise dos dados foi utilizado o programa Sistema para Análise Estatística - SAEG.



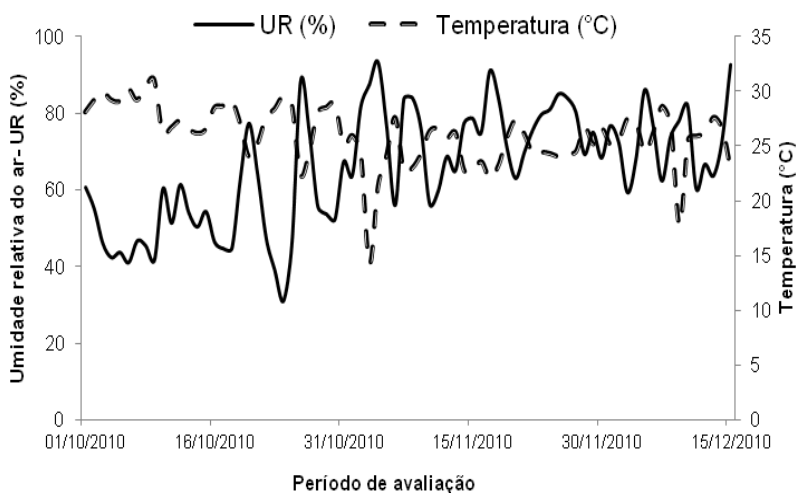
Os dados foram submetidos à análise de variância e à análise de regressão. Quando necessário, compararam-se as médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os dados referentes à percentagem de incidência de fusariose em cada propriedade são apresentados no GRAF. 1. Verificou-se que, em todas as propriedades, o nível de incidência da doença foi muito acima do nível de controle da doença (1%). Dentre os fatores que podem ter contribuído para o elevado número de plantas doentes na região do Pentáurea, estão: a umidade relativa do ar, que permaneceu acima de 60%; a temperatura média, que oscilou entre 20 e 30°C e a fase fenológica da cultura (reprodução/propagação) (GRAF. 2).



**GRÁFICO 1** – Incidência de fusariose de quatro propriedades da comunidade de Chapadinha, município de Montes Claros – MG  
 Fonte: Elaborado pela autora



**GRÁFICO 2** – Temperatura média e umidade relativa do ar entre os meses de outubro e dezembro do ano de 2010  
 Fonte: 5° DINMET – Montes Claros – MG.

Segundo Matos *et al.* (2009) , os níveis de incidência de fusariose em alguns cultivos de abacaxi no estado de Tocantins foram elevados (20-30%). Esta pesquisa, apesar de ter sido realizada em Minas Gerais, corroborou o estudo de Matos *et al.*(2009). Conforme esses autores, a emissão da inflorescência pelas plantas foi em período em que as condições de temperaturas e umidade relativa do ar eram favoráveis à produção de propágulos e infecção das plantas pelo fungo.

Na propriedade 4, observou-se um menor número de plantas com sintoma da doença (GRÁF. 1). Um fator que pode auxiliar na compreensão da menor incidência da doença na propriedade 4 é que a área localiza-se em meio a uma vegetação de cerrado pouco densa e não há outros cultivos próximos ao local. O isolamento dificulta a entrada e a dispersão de inóculo, sendo que a entrada do fungo provavelmente ocorreu por meio de mudas infectadas de outras áreas do próprio agricultor, onde havia também plantas com sintomas de fusariose.

As propriedades 1 e 3 apresentaram o dobro de incidência de fusariose, quando comparadas com a propriedade 4 (GRAF. 1). Nessas propriedades, não se realiza adubação, porém utiliza-se a prática de rotação de culturas entre abacaxi e mandioca, o que pode estar contribuindo para que a doença não cause danos mais severos à produção de frutos.

Já a propriedade 2 apresentou incidência extremamente elevada (GRAF. 1). Nela, a produção de frutos foi totalmente comprometida e um grande número de plantas não emitiu inflorescência. Na área dessa propriedade, foram realizadas práticas de rotação de cultura (mandioca e abacaxi), aplicação de calcário e de adubos (fosfato de araxá e sulfato de amônio). Entretanto as práticas de correção e adubação do solo não foram baseadas em análise química e física do solo ou mesmo em análise foliar das plantas de abacaxi. Talvez a adubação nitrogenada, principalmente, tenha causado desequilíbrio nutricional na plantas dessa propriedade, tornando-as mais suscetíveis ao *Fusarium guttiforme*. De acordo com Agrios (2004), o excesso de nitrogênio pode tornar a planta mais suscetível e, quando fornecido em forma de amônia em pH ácido, como são normalmente os solos de cerrado, pode favorecer o aumento da severidade da doença.

Os agricultores tradicionalmente adquirem as mudas de abacaxi em plantios antigos ou com agricultores vizinhos. Segundo Cunha (2003), cerca de 40% das mudas provenientes de plantações podem estar infectadas e, dessas, 20% morrem antes de emitir a inflorescência. Ventura e Zambolim (2002) salientam que apenas a seleção não garante que os plantios serão totalmente saudáveis. É comum aparecerem de 2 a 10% de plantas doentes em áreas que fizeram seleção de mudas antes do plantio.

Outro fator que contribui para permanência e a disseminação do inóculo é a idade dos plantios. O abacaxizeiro é uma cultura essencialmente perene e pode ter vários ciclos durante muitos anos no mesmo local, dando origem ao que é comumente denominado de soca (LIMA *et al.*, 2002). Por causa da fusariose, a utilização da soca deveria ser evitada pelos agricultores brasileiros. Entretanto o que se observou nas propriedades pesquisadas é que os agricultores fazem uso da soca e, quando a incidência da doença chega a níveis que impede a produção de frutos, as áreas são simplesmente abandonadas e, ao lado dessas, instala-se um novo plantio.

Em conformidade com Ventura e Zambolim (2002), o fungo pode permanecer de forma saprofítica nas folhas do abacaxizeiro, mas também em outras plantas presentes na lavoura. Assim, as áreas de soca, que são simplesmente abandonadas, servem como fonte de inóculo para os plantios vizinhos e também possibilitam a permanência do *Fusarium guttiforme* naquele local, mesmo após a morte das plantas de abacaxi.

A taxa de crescimento micelial de todos os isolados, quando incubados em fotoperíodo de 12 horas, foi influenciada pela interação da temperatura com tempo de incubação. Para o isolado PLA 1, a temperatura de 30°C, nas primeiras 24 horas, proporcionou a maior taxa de crescimento, entretanto, 48 horas após, foi na temperatura de 25°C que se observou a maior taxa de crescimento. Nos períodos de 72, 96, 120 e 144 horas, não houve diferença entre as temperaturas testadas (TAB. 1).

**TABELA 1**

Taxa de crescimento micelial (cm) do isolado PLA 1, submetido a diferentes temperaturas e fotoperíodo de 12 horas, durante 144 horas de incubação

Temperaturas	Tempo de incubação (horas)					
	24	48	72	96	120	144
<b>30°C</b>	1,13a	1,49 b	1,33a	1,10a	1,07a	0,86a
<b>25°C</b>	0,38 b	2,30a	1,89a	1,61a	1,49a	0,62a
<b>20°C</b>	0,11 b	1,07 b	1,50a	1,37a	1,15a	1,29a
<b>CV (%)</b>	22,78					

Fonte: Elaborada pela autora

Nota: As médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

O isolado PLA 2 se comportou de forma diferente, crescendo mais à temperatura de 25°C entre os períodos de 48 e 120 horas de incubação, em fotoperíodo de 12 horas, em comparação com as temperaturas de 20 e 30°C, nesse mesmo período (TAB 2). O mesmo também ocorreu para os isolados FRU 1 e FRU 2 entre os períodos de 48 e 96 horas de incubação (TAB. 3 e 4).

**TABELA 2**

Taxa de crescimento micelial (cm) do isolado PLA 2, submetido a diferentes temperaturas e fotoperíodo de 12 horas, durante 144 horas de incubação

Temperaturas	Tempo de incubação (horas)					
	24	48	72	96	120	144
<b>30°C</b>	0,55ab	1,20 b	1,17 b	1,03 b	0,98 b	0,77ab
<b>25°C</b>	0,77a	1,89a	1,73a	1,73a	1,53a	0,64 b
<b>20°C</b>	0,13 b	1,38ab	1,67ab	1,44ab	1,09ab	1,29a
<b>CV (%)</b>	23,43					

Fonte: Elaborada pela autora

Nota: As médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

**TABELA 3**

Taxa de crescimento micelial (cm) do isolado FRU 1, submetido a diferentes temperaturas e fotoperíodo de 12 horas, durante 144 horas de incubação

Temperaturas	Tempo de incubação (horas)					
	24	48	72	96	120	144
<b>30°C</b>	1,05a	1,58 b	1,52 b	1,39 b	1,28a	0,91a
<b>25°C</b>	0,68ab	2,17a	2,11a	1,95a	1,40a	0,00 b
<b>20°C</b>	0,36 b	1,21 b	1,73ab	1,60ab	1,24a	1,41a
<b>CV (%)</b>	12,96					

Fonte: Elaborad pela autora

Nota: As médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

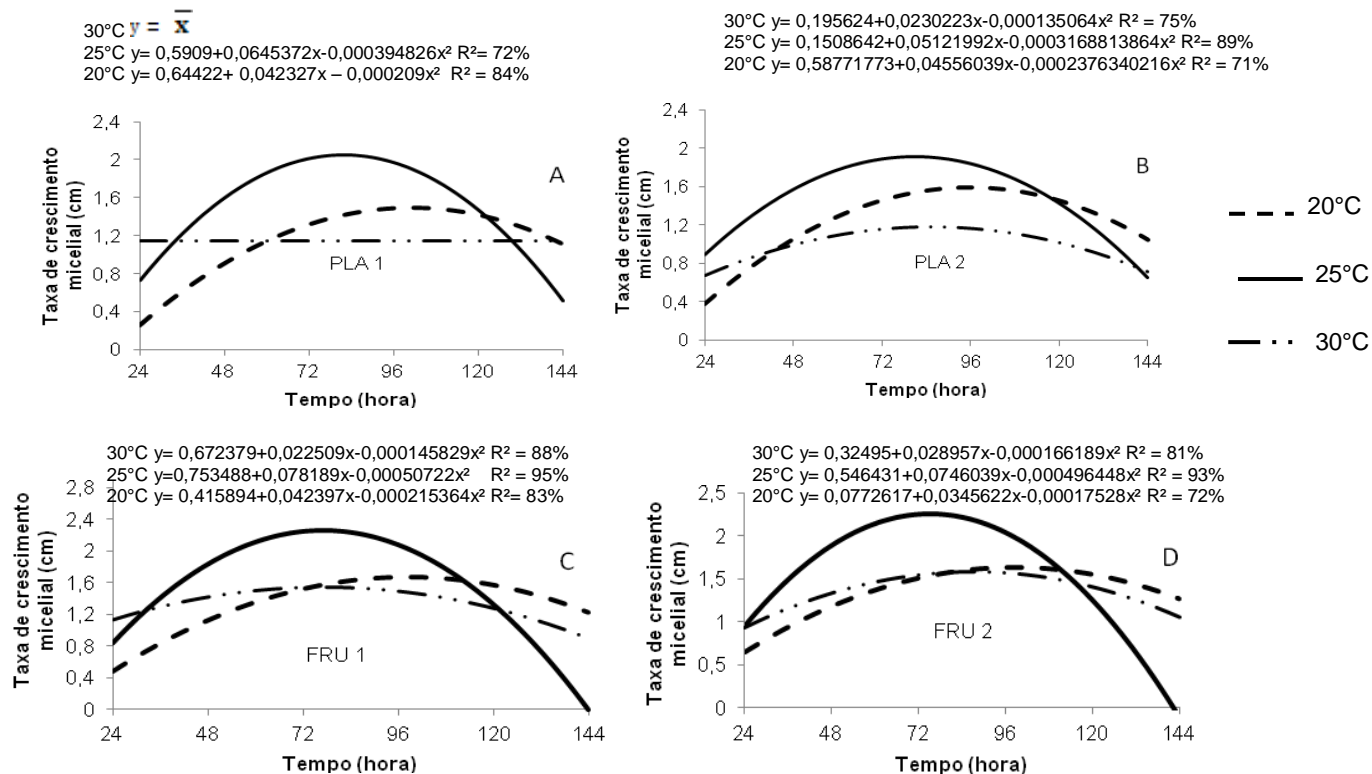
**TABELA 4**

Taxa de crescimento micelial (cm) do isolado FRU 2, submetido a diferentes temperaturas e fotoperíodo de 12 horas, durante 144 horas de incubação

Temperaturas	Tempo de incubação (horas)					
	24	48	72	96	120	144
<b>30°C</b>	0,82a	1,46 b	1,67 b	1,44 b	1,30a	1,14 b
<b>25°C</b>	0,74a	2,32a	2,18a	1,87a	1,20a	0,00 c
<b>20°C</b>	0,44 b	1,54 b	1,53 b	1,46 b	1,39a	1,41 <sup>a</sup>
<b>CV (%)</b>	11,42					

Fonte: Elaborado pela autora

Nota: As médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.



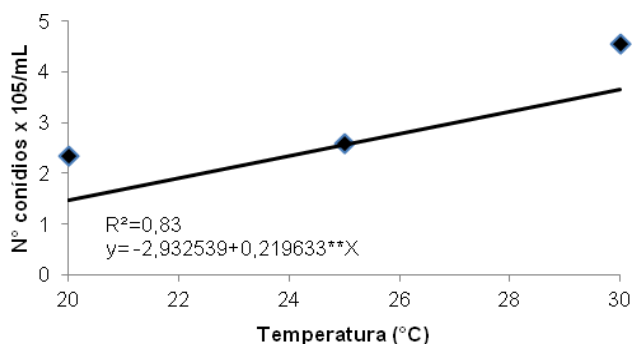
**GRÁFICO 3** – Taxa de crescimento de quatro isolados de *Fusarium guttiforme*, em função do tempo de incubação em fotoperíodo de 12 horas e a diferentes temperaturas:

- (A) Taxa de crescimento micelial do isolado PLA 1
- (B) Taxa de crescimento micelial do isolado PLA 2
- (C) Taxa de crescimento micelial do isolado FRU 1
- (D) Taxa de crescimento micelial do isolado FRU 2

Fonte: Elaborado pela autora

Em fotoperíodo de 12 horas, todos os isolados de *F. guttiforme* estudados apresentaram as melhores taxas de crescimento ao longo do tempo, quando incubados a uma temperatura de 25°C (GRAF. 3A, 3B, 3C e 3D). Para os isolados PLA 2 e PLA 1, provenientes de folhas, verificou-se que, no período entre 80 a 82 horas de incubação, em temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas, ocorreu a maior taxa de crescimento micelial do fungo (1,91 e 2,05 cm). Já os isolados FRU 2 e FRU 1, oriundos de frutos, apresentaram a maior taxa de crescimento (2,26 cm), transcorrido um tempo em torno de 75 a 77 horas de incubados em temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12.

Os quatro isolados de *F. guttiforme*, produziram o mesmo número de conídios, quando incubados em fotoperíodo de 12 horas. O que interferiu no número de conídios foi a temperatura de incubação. O número de conídios aumentou, à medida que se aumentou a temperatura (GRAF. 4).

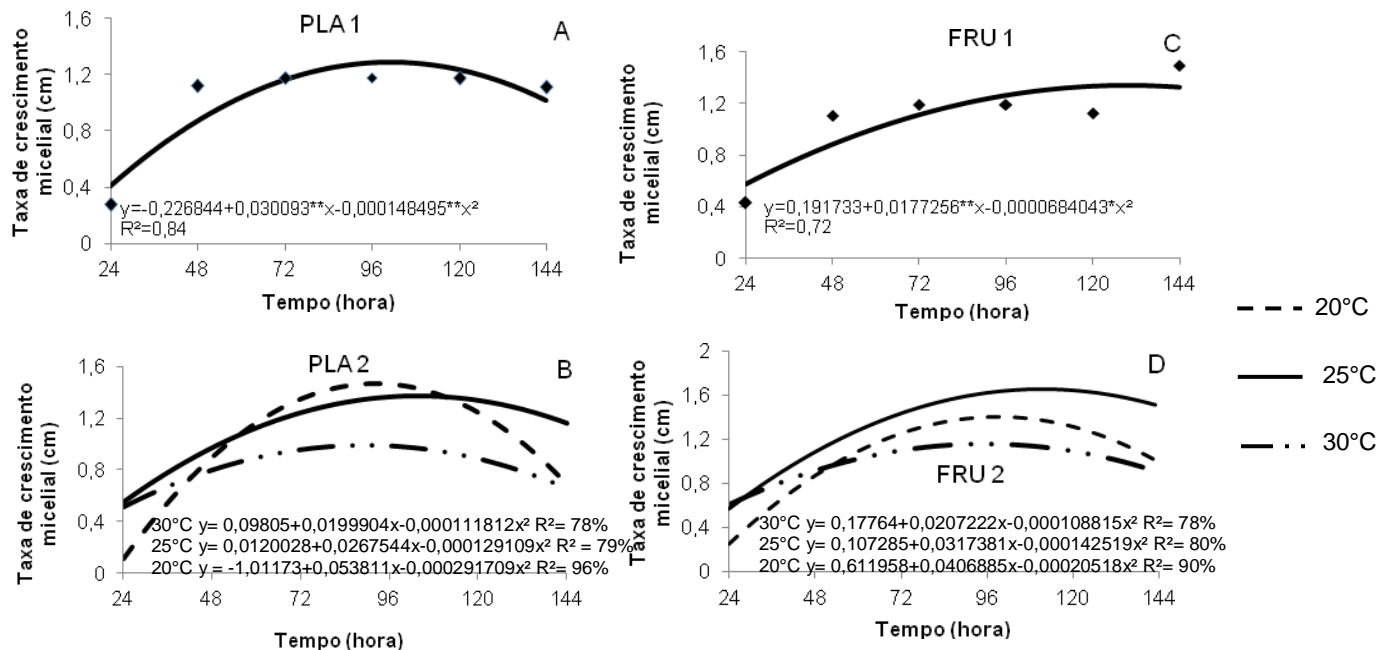


**GRÁFICO 4** - Número de conídios produzidos por *Fusarium guttiforme*, em diferentes temperaturas de incubação e fotoperíodo de 12 horas

Fonte: Elaborado pela autora



A taxa de crescimento micelial dos quatro isolados, quando incubados em escuro contínuo, é apresentada nas TAB. 5, 6, 7 e 8 e no GRAF. 5. A taxa crescimento dos isolados PLA 1 e FRU 1 não foi influenciada pela interação entre temperatura *versus* tempo, diferentemente dos isolados PLA 2 e FRU 2, que foram influenciados.



**GRÁFICO 5** – Taxa de crescimento micelial de quatro isolados de *Fusarium guttiforme* em função do tempo quando submetidos a diferentes temperaturas e escuro contínuo

- (A) Taxa de crescimento micelial do isolado PLA 1
- (B) Taxa de crescimento micelial do isolado PLA 2
- (C) Taxa de crescimento micelial do isolado FRU 1
- (D) Taxa de crescimento micelial do isolado FRU 2

Fonte: Elaborado pela autora

Os isolados PLA 1 e FRU 1 apresentaram a maior média na taxa de crescimento micelial, quando cultivados, em escuro contínuo, à temperatura de 25°C, independentemente do tempo de incubação (TAB. 5 e 6). Já para o isolado PLA 2, observou-se diferença na taxa de crescimento entre as culturas expostas à temperatura de 25°C e as demais (TAB. 5 e 6), somente após 144 horas de incubação (TAB. 7 e 8).

**TABELA 5**

Taxa de crescimento micelial (cm) do isolado PLA 1, submetido a diferentes temperaturas, em escuro contínuo

<b>Temperaturas</b>	<b>Taxa de crescimento micelial (cm)</b>
<b>25°C</b>	1,20a
<b>20°C</b>	0,92 b
<b>30°C</b>	0,89 b
<b>CV(%)</b>	21,83

Fonte: Elaborado pela autora

Nota: As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

**TABELA 6**

Taxa de crescimento micelial (cm) do isolado FRU 1, submetido a diferentes temperaturas, em escuro contínuo

<b>Temperaturas</b>	<b>Taxa de crescimento micelial (cm)</b>
<b>25°C</b>	1,32a
<b>20°C</b>	1,00 b
<b>30°C</b>	0,94 b
<b>CV(%)</b>	24,80

Fonte: Elaborado pela autora

Nota: As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

**TABELA 7**

Taxa de crescimento micelial (cm) do isolado PLA 2, submetido a diferentes temperaturas e escuro contínuo, durante 144 horas de incubação

Temperaturas	Tempo de incubação (horas)					
	24	48	72	96	120	144
<b>30°C</b>	0,43a	0,98a	0,91a	0,91a	0,87a	0,68 b
<b>25°C</b>	0,41a	1,24a	1,25a	1,25a	1,25a	1,25a
<b>20°C</b>	0,03a	1,06a	1,34a	1,33a	1,30a	0,70 b
<b>CV (%)</b>	20,82					

Fonte: Elaborada pela autora

Nota: As médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

**TABELA 8**

Taxa de crescimento micelial (cm) do isolado FRU 2, submetido a diferentes temperaturas e escuro contínuo, durante 144 horas de incubação

Temperaturas	Tempo de incubação (horas)					
	24	48	72	96	120	144
<b>30°C</b>	0,51a	1,12ab	1,08 b	1,08 b	1,07 b	0,95 b
<b>25°C</b>	0,37ab	1,42a	1,47a	1,48a	1,49a	1,65a
<b>20°C</b>	0,11 b	1,10 b	1,28ab	1,26ab	1,26ab	1,07 b
<b>CV (%)</b>	14,49					

Fonte: Elaborada pela autora

Nota: As médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Para o isolado FRU 2, as taxas de crescimento foram maiores nos períodos de 24 e 48 horas, nas temperaturas de 25 e 30°C (TAB. 8). Já entre

os períodos de 72 e 120 horas, foram as temperaturas de 20 e 25°C que proporcionaram a maior taxa de crescimento do isolado. Após 144 horas, verificou-se que as culturas expostas a 25°C apresentaram a maior taxa de crescimento para o isolado FRU 2 (TAB. 8).

O isolado PLA 1, incubado em escuro contínuo, apresentou um aumento da taxa de crescimento micelial, conforme o tempo, até 101 horas cultivo. Nesse período, o isolado atingiu a taxa máxima de crescimento, 1,29 cm, independente da temperatura de incubação (GRAF. 5A). Para o isolado PLA 2, observou-se que a temperatura de 20°C proporcionou a maior taxa de crescimento (1,46 cm), até 92 horas de incubação (GRAF. 5B).

A taxa de crescimento do isolado FRU 1, em escuro contínuo aumentou, em função do tempo de incubação até 129 horas, onde, nesse, o isolado apresentou a maior taxa de crescimento micelial, 1,34 cm, independente da temperatura de cultivo (GRAF. 5C). Já para o isolado FRU 2, foi observado o ponto máximo na taxa de crescimento (1,65 cm), quando esse foi cultivado à temperatura de 25°C, enquanto a maior queda na taxa de crescimento ocorreu quando as culturas foram expostas à temperatura de 20°C (GRAF. 5D).

Em relação ao número de conídios produzidos por cada isolado, não houve interação dos fatores (isolados *versus* temperatura de incubação) quando se incubou os mesmos no escuro.

Independente da temperatura de incubação, o isolado FRU1 foi o que produziu o maior número de conídios, duas vezes mais que os isolados PLA 1, PLA 2 e FRU 2 (Tab. 9).

**TABELA 9**

Número de conídios produzidos por quatro isolados de *Fusarium guttiforme* submetidos a diferentes temperaturas de incubação em escuro contínuo

<b>Isolado</b>	<b>N° de conídio/mL</b>
<b>PLA 1</b>	2,42x10 <sup>5</sup> b
<b>PLA 2</b>	2,95x10 <sup>5</sup> b
<b>FRU 1</b>	4,17x10 <sup>5</sup> a
<b>FRU 2</b>	2,35x10 <sup>5</sup> b
<b>CV(%)</b>	48,03

Fonte: Elaborada pela autora

Nota: As médias seguidas de mesma letra, na coluna não, diferenciam pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Doohan *et al.* (2003) admitem que a temperatura e a luz são fatores que influenciam a reprodução do *Fusarium*. Isso pôde ser verificado com esta pesquisa, onde os isolados apresentaram comportamentos distintos, quando incubados em escuro contínuo e em fotoperíodo de 12 horas. A alternância de luz proporcionou a maior taxa crescimento dos isolados. Porém quando esses isolados foram cultivados em escuro contínuo, o isolado FRU 1 se diferenciou dos demais, quanto à produção de conídios.

De acordo com Leach (1967), a luz estimula a reprodução sexuada e assexuada de alguns fungos e esse estímulo está correlacionado à temperatura. Esse fato foi confirmado na presente pesquisa, pois, quando os isolados de *F. subglutinans* f. sp. *ananas* foram expostos ao fotoperíodo de 12 horas, o número de conídios produzidos aumentou, conforme aumentou-se a temperatura. Já quando submetidos ao escuro contínuo, a produção de conídios dos quatro isolados testados não foi afetada pelo aumento da temperatura.

Castellá *et al.* (1999) relataram uma temperatura ótima para crescimento do *F. subglutinans* entre 15 e 25°C, em meios de cultura à base de arroz e de milho. No presente trabalho, foi utilizado meio de cultura BDA, onde a temperatura ótima de crescimento dos isolados de *F. guttiforme* fixou-

se em 25°C. Em conformidade com Agrios (2004), alguns fungos, como, por exemplo, o *Fusarium sp.*, crescem mais rápido em temperaturas elevadas entre 18 - 30°C.

Os resultados desta pesquisa também são semelhantes aos observados por Martelleto (1995), que relatou uma temperatura ótima de 25°C para o crescimento desse patógeno, em fotoperíodo de 12 horas.

#### **4 CONCLUSÃO**

A incidência de fusariose nas propriedades rurais da comunidade rural de Chapadinha, no município de Montes Claros – MG é de 24,22%, na propriedade 1; de 64,4%, na propriedade 2; de 26,2%, na propriedade 3 e de 12,2%, na propriedade 4.

Os isolados PLA 1, PLA 2, FRU 1 e FRU 2 de *Fusarium guttiforme* apresentam maior taxa de crescimento micelial, quando cultivados em fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25°C.

Em fotoperíodo de 12 horas, o aumento na temperatura entre 20 e 30°C proporciona também aumento no número de conídios produzidos pelo *Fusarium guttiforme*.

O isolado FRU 1 produz mais conídios do que os isolados PLA 1, PLA 2 e FRU 2, em escuro contínuo.

### **CAPÍTULO 3 – COMPORTAMENTO DE FUSARIUM GUTTIFORME EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE URINA DE VACA E EXTRATO DE BARBATIMÃO**

#### **RESUMO**

A fusariose é a mais importante doença da cultura do abacaxizeiro. Tem causado grandes prejuízos aos agricultores da zona rural do município de Montes Claros – MG. Assim, objetivou-se, com esta pesquisa, avaliar a influência da urina de vacas em lactação e o extrato de barbatimão sobre o desenvolvimento do *Fusarium guttiforme* e o efeito preventivo e curativo desses compostos sobre a fusariose em mudas de abacaxi. Para tanto, foram realizados oito experimentos: três em laboratório e cinco em casa de vegetação, organizados em delineamento inteiramente casualizado, com esquema fatorial 5x4 (5 concentrações urina de vaca ou extrato de barbatimão e 4 isolados do fungo), com três repetições cada. Nesses, foram avaliados o crescimento micelial do fungo e a severidade da doença, após tratamento preventivo e curativo das mudas. Um experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado, avaliando-se o efeito da urina de vaca sobre a indução de resistência de mudas de abacaxizeiro à doença. A análise dos dados demonstrou que a urina de vaca filtrada em Millipore, nas concentrações de 2 e 4% reduziu o crescimento micelial dos isolados *F. guttiforme* PLA 2, FRU 1 e FRU 2. Já o extrato de barbatimão proporcionou aumento na massa seca do fungo. De forma geral, a severidade da fusariose não foi reduzida pela utilização da urina ou do extrato de barbatimão.

**Palavras-chave:** Biofertilizantes. Extrato vegetal. Controle alternativo. Severidade. *Ananas comosus*.



### CHAPTER 3 - CONDUCT OF FUSARIUM GUTTIFORME AT DIFFERENT CONCENTRATIONS OF COW URINE AND BARBATIMAN EXTRACT

#### ABSTRACT

The fusarium wilt is the most important diseases of the culture of pineapple. It has caused great harm to farmers in the countryside in the city of Montes Claros, Minas Gerais State. Thus, the aim in this research was to evaluate the influence of cow urine lactation and barbatiman extract on the development of *Fusarium guttiforme* and preventive and curative effect of these compounds on fusarium wilt on seedlings of the pineapple. To this end, they were conducted eight experiments: three in the laboratory and five in greenhouse arranged in a completely randomized design with 5x4 factorial design (five concentrations cow urine or barbatiman extract and 4 isolates of the fungus), with three repetitions each. In these, they were assessed the mycelial growth of fungus and the disease severity after preventive and curative treatment of the seedlings. An experiment was arranged in completely randomized design, to evaluate the effect of the cow urine on the resistance induction of pineapple seedlings to the disease. The data analysis showed that cow urine filtered in Millipore at concentrations of 2 and 4% reduced the mycelial growth of the isolates *F. guttiforme* PLA 2, FRU 1 and FRU 2. Already the barbatiman extract provided increase in dry weight of the fungus. In general, the severity of the fusarium wilt was not reduced by the use of urine or barbatiman extract.

**Keywords:** Biofertilizers. Vegetable extract. Alternative control. Severity. *Ananas comosus*.

## 1 INTRODUÇÃO

A abacaxicultura é uma atividade promissora para a região do semiárido brasileiro. Contudo há alguns fatores, como a sanidade das plantas, que podem limitar a expansão dessa atividade. A fusariose do abacaxizeiro, doença causada pelo fungo *Fusarium guttiforme*, pode ocasionar perdas de até 80% na produção (VENTURA; ZAMBOLIM, 2002). Essa doença é a mais importante moléstia que acomete o cultivo de abacaxi (AQUIJE *et al.*, 2010). Atualmente, a doença já se encontrada disseminada por todo o território brasileiro. De acordo com Cunha (2003), cerca de 40% das mudas provenientes de plantações já estabelecidas podem estar infectadas e, dessas, 20% morrem antes de iniciar a fase reprodutiva.

As mudas utilizadas para formação do abacaxizal ou renovação das áreas de cultivo são brotos obtidos da própria planta. Muitos agricultores familiares iniciam os seus campos de produção a partir de mudas adquiridas em plantios vizinhos, onde não é possível determinar, com precisão, a sanidade das plantas. Conforme Santos *et al.* (2002), esse costume pode ter contribuído para a rápida disseminação do patógeno no território brasileiro (SANTOS *et al.*, 2002).

O controle da doença do abacaxizeiro é realizado por meio da aquisição de mudas em viveiros certificados, do monitoramento da incidência da doença no campo, da antecipação da floração, da aplicação de fungicidas (grupos químicos dos triazóis e benzimidazóis) e do uso de variedades resistentes (MATOS; CABRAL, 2005). Entretanto os agrotóxicos contribuem para a seleção de populações de patógenos resistentes a fungicidas. Além disso, a crescente preocupação com a conservação do meio ambiente tem impulsionado novas pesquisas na área de fitopatologia. Uma das vertentes têm sido as pesquisas, com a utilização de óleos e extratos vegetais, biofertilizantes e homeopatas, para o controle de fitopatógenos.

Os biofertilizantes são todos os produtos ou efluentes produzidos por digestão anaeróbia, e/ou mesmo aeróbia, de esterco puros ou de misturas com resíduos orgânicos e sais. Algumas instituições de pesquisa, como a Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (Pesagro),

têm estudado a utilização da urina de vaca e de cabra na agricultura (CARMO; CORREA, 2006).

Segundo SEMANA DO FAZENDEIRO (2006), as urinas de vaca e de cabra podem ser utilizadas como fertilizante e fungicida no combate à fusariose do abacaxizeiro. Broek *et al.* (2002) e Bettiol e Ghini (2004) descrevem que a urina de vaca é composta por 90% de água e 10% de nutrientes, além de compostos antimicrobianos e substâncias que induzem resistência ao patógeno em plantas.

Pesagro (1994) admite que a urina de vaca contém compostos, como: ureia, amônia, pirocatecol, pirocatequina, urocromo, urobilina, urobilinogênio, urinod, ácido úrico, ácido hipúrico, creatina, alantoina, guanina, xantina, hipoxantina, adenina, albumina, amilase, pepsina, tripsina, lípase, ácido oxálico, ácido láctico, ácido indolacético, aminoácidos, carboidratos, vitaminas, ácidos graxos e compostos orgânicos fosforilados. Dentre todas as substâncias acima mencionadas, esses pesquisadores acreditam que o pirocatecol seja responsável pela ação antifúngica da urina de vaca.

Martelleto (1995) avaliou o efeito da urina de vaca sobre a evolução da fusariose em mudas de abacaxi e verificou que o tratamento não conteve o progresso da doença. Já em estudos realizados para controle da mancha púrpura da cebolinha, causada pela *Alternaria porri*, a urina de vaca teve eficiência semelhante ao fungicida azoxystrobin (SANTANA, 2007).

As plantas também são importantes fontes de substâncias biologicamente ativas. Na área fitossanitária, os produtos naturais podem apresentar três atividades principais: antimicrobianos, agindo diretamente sobre os fitopatógenos; indutores de resistência, pois contêm moléculas bioativas, capazes de induzir ou ativar os mecanismos de defesa da planta e de bioestimulantes do crescimento da planta (STADNIK; TALAMINI, 2004).

Entre as plantas com substâncias que possuem atividade biológica antimicrobiana e elicitora, estão o alecrim (*Rosmarinus officinalis*), a manjerona (*Origanum manjerona*), o orégano (*O. vulgare*), a alfavaca (*Ocimum basilium*), o alfavaca-cravo (*O. gratissimum*), o mentrasto (*Ageratum conyzoides*), a babosa (*Aloe vera*), a mil-folhas (*Achillea millefolium*), o boldo-da-terra (*Plectranthus barbatus*), a cana-de-macaco

(*Costus pisonis*), o eucalipto (*Eucalyptus globulus*), a hortelã (*Mentha villosa*), o barbatimão (*Stryphonodendron adstringens*), dentre outras (BIZI, 2006; SCHWAN-ESTRADA *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 2008).

Na antiguidade, os extratos de plantas ricas em tanino eram utilizados para curtir peles de animais, devido à sua característica de complexação e à polimerização com proteínas. O tanino também é utilizado em produtos farmacêuticos e biocidas adesivos, resinas, na fabricação de papéis compósitos, combustíveis, etc. (JORGE *et al.*, 2001). Os autores citam ainda que os taninos condensados atuam como inibidores celulolíticos, produtores de enzimas extracelulares que degradam as moléculas de celulose, bloqueando ou atrasando a ação dessas enzimas, por meio da complexação com as mesmas.

Segundo Vasconcelos *et al.* (2004), já foram identificados os seguintes compostos químicos no barbatimão: taninos, flavonoides, terpenos, estilbenos, esteroides, inibidores de tripsina e de protease. Lopes *et al.* (2009) verificaram que o teor de tanino, na casca de *Stryphonodendron adstringens*, é de 19%. Os taninos são produtos do metabolismo secundário das plantas e podem ser encontrados em várias partes, como: raízes, folhas, casca, fruto e madeira (ORLANDO, 2005). Essas substâncias são solúveis em água e capazes de formar complexos insolúveis em água com alcaloides, gelatina e outras proteínas.

Estudos comprovaram, por meio de teste *in vitro*, a ação bactericida do extrato de barbatimão sobre *Streptococcus mitis*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosas*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Escherichia coli*, (SOARES *et al.*, 2008; SOUZA *et al.*, 2007). Atribui-se o controle de insetos, fungos e bactérias à propriedade dos taninos de complexarem proteínas (SIMÕES *et al.*, 2004).

Diante do exposto, objetivou-se, com esta pesquisa, avaliar a influência da urina de vacas em lactação e o extrato de barbatimão sobre o desenvolvimento do *Fusarium guttiforme* e o efeito preventivo e curativo desses compostos sobre a fusariose em mudas de abacaxi.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

A obtenção dos isolados e culturas monospóricas foi realizada de acordo com o descrito no capítulo 2.

### 2.1 Obtenção da urina de vaca

A urina foi coletada de vacas holandêsas em lactação do rebanho leiteiro do Instituto de Ciências Agrárias/UFMG, alimentadas com milho grão, farelo de soja, ureia, sal mineral e silagem de sorgo. A urina foi acondicionada em embalagens de polietileno tereftalato ao abrigo da luz, por um período de sete dias. Foram retiradas duas amostras da urina de vaca. Após armazenamento, uma amostra foi enviada ao Laboratório de Análise de Solos da Universidade Federal Rural do Rio Janeiro e a outra amostra foi utilizada para a caracterização microbiológica no Laboratório de Microbiologia Aplicada do ICA/UFMG.

A urina de vaca, após armazenamento, continha: 0,36% de N; 0,0001% de P; 0,8% de K e pH igual a 8,51. Quanto à caracterização microbiológica, foram realizados testes de coliformes totais, coliformes termotolerantes e contagem de unidades formadoras de colônia (UFC/mL). Os resultados foram negativos para coliformes totais e termotolerantes. Na amostra, foram contabilizadas  $2,48 \times 10^5$  de UFC/mL.

A urina de vaca foi submetida a dois métodos de esterilização, conforme Alonso *et al.* (1994), com algumas modificações. No primeiro, a urina de vaca foi filtrada, inicialmente, em filtro de papel e, em seguida, em filtro tipo Millipore, com membranas de porosidade de 0,22  $\mu\text{m}$ . No segundo método, a urina de vaca foi autoclavada por 15 minutos a uma temperatura de 120°C.

### 2.2 Obtenção de extrato bruto de barbatimão

Foi coletado um quilograma de fragmentos da casca de plantas de barbatimão, localizadas nas comunidades rurais da região do Pentáurea. Para a extração do extrato bruto, o material foi seco em estufa, com ventilação forçada a 40°C, por 48 horas. A seguir, o material seco foi triturado

em moinho (WILLEY), para a obtenção do pó da casca. Pesou-se 0,5 kg desse pó, o qual foi macerado em solução de álcool etanoico 70%. Em seguida, acondicionou-se essa mistura em vidro âmbar, ao abrigo da luz, durante 15 dias. Após esse período, o material foi filtrado em papel filtro e colocado em banho-maria à temperatura de 60°C, para a redução do volume e, posteriormente, levado à estufa de circulação forçada para completa secagem do material. Obteve-se, dessa forma, o extrato bruto da casca de barbatimão em pó (KRYCHAK-FURTADO, 2006), utilizado nos experimentos.

### **2.3 Urina de vaca sobre o crescimento micelial *F. guttiforme***

A urina de vaca filtrada em filtro Millipore (0,22 µm) foi adicionada ao meio de cultura BDA a 45 °C, de forma que atingisse as concentrações finais 0, 2, 4, 6, 8% v/v. Mensurou-se o potencial hidrogeniônico e, em seguida, o meio cultura contendo urina de vaca filtrada foi vertido em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. Após 1 hora, transferiram-se, para o centro das placas, discos de 0,7 cm de diâmetro da cultura dos quatro isolados (PLA 1, PLA 2, FRU 1 e FRU 2).

No segundo experimento, a urina de vaca foi autoclavada por 20 minutos. Empregou-se o mesmo procedimento utilizado para a montagem do experimento com urina de vaca autoclavada, descrito anteriormente para a urina de vaca filtrada em filtro Millipore.

O delineamento utilizado nos dois experimentos foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial de 5x4, sendo 5 concentrações de urina de vaca esterilizada e 4 isolados diferentes de *Fusarium guttiforme*, com três repetições cada. Para avaliar o crescimento micelial dos isolados, após sete dias de cultivo, as colônias foram medidas em dois eixos ortogonais.

### **2.4 Efeito preventivo da urina de vaca sobre a fusariose do abacaxizeiro**

Para avaliar o efeito preventivo da urina de vaca sobre a fusariose do abacaxizeiro, mudas de abacaxi cv. Peróla foram inoculadas, utilizando-se um suporte contendo 60 agulhas entomológicas para fazer ferimentos na base das mudas (SANTOS *et al.*, 2002). As plantas com ferimentos foram imersas inicialmente em urina de vaca, nas respectivas concentrações, por

15 minutos. Após isso, as mesmas foram inoculadas em suspensão de conídios de cada isolado, na concentração de  $1 \times 10^5$  conídios.mL<sup>-1</sup>, por 3 minutos. As mudas foram, então, transplantadas para sacos de polietileno, com capacidade de 1 litro, contendo substrato composto por terra, areia e esterco bovino, na proporção de 3:1:1. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado, com esquema fatorial 5x4, sendo 5 concentrações de urina de vaca (0, 2, 4, 6 e 8%) e 4 isolados de *F. guttiforme* (PLA 1, PLA 2, FRU 1 e FRU 2), com 3 repetições, com duas plantas por parcela.

Transcorridos 90 dias, as plantas foram retiradas do substrato, lavadas em água e cortadas no sentido longitudinal da planta. Em seguida, avaliou-se a severidade dos sintomas internos na base das mudas, por meio da escala de notas, descrita por Mello (2001), variando de 0 a 4, onde: 0= sem sintoma; 1= necrose e apodrecimento estendendo-se até 20% da base da planta; 2= necrose e apodrecimento estendendo-se até 50% da base da planta; 3= necrose e apodrecimento estendendo-se até 80% da base da planta; 4= necrose e apodrecimento estendendo-se até 100% da base da planta.

## 2.5 Efeito curativo da urina de vaca sobre a fusariose do abacaxizeiro

A metodologia aplicada nesse experimento foi a mesma utilizada para avaliar o efeito preventivo da urina de vaca, exceto quanto à ordem de aplicação do tratamento e da suspensão de conídios. Inicialmente, as mudas foram imersas nas suspensões de conídios dos isolados, na concentração de  $1 \times 10^{-5}$  conídios.mL<sup>-1</sup> por 3 minutos e colocadas em câmara úmida e ao abrigo da luz, por 24 horas. A seguir, as mudas foram então tratadas com a urina de vaca em suas diferentes concentrações, por 15 minutos e transplantadas para os sacos de polietileno contendo o substrato.

## 2.6 Indução de resistência com urina de vaca à fusariose

Para avaliar o efeito da urina de vaca sobre a indução de resistência de mudas de abacaxi ao *F. guttiforme*, realizou-se um experimento em casa de vegetação. Mudas de abacaxi cv. Peróla foram destacadas da planta matriz e imediatamente tratadas com urina de vaca, diluída em água, nas concentrações de 0, 2, 4, 6 e 8% v/v, por meio de borrifação superficial. Após sete dias, as plantas foram pesadas, inoculadas apenas com o isolado de *F. guttirme* FRU 1 e transplantadas em vasos de polietileno, com capacidade de 3 L, contendo substrato composto por terra, areia e esterco bovino, na proporção de 3:1:1.

Ao longo de 60 dias, as plantas receberam, a cada 15 dias, o tratamento com urina de vaca, por meio de borrifação. No sexagésimo dia, as plantas foram retiradas dos vasos, pesadas e cortadas longitudinalmente. A avaliação da severidade dos sintomas internos na base das mudas foi realizada, conforme a escala de notas, descrita por Mello (2001). Avaliou-se, também, o aumento na massa fresca das mudas, por meio da diferença entre a massa das plantas obtida antes do plantio e após 60 dias de cultivo, sendo os dados expressos em porcentagem. Para as plantas que apresentaram aumento da massa fresca negativo, considerou-se acréscimo de massa fresca igual a zero. O utilizado foi delineamento inteiramente casualizado. O experimento constou da avaliação de cinco tratamentos (urina de vaca nas



concentrações 0, 2, 4, 6 e 8% (v/v)), com quatro repetições cada, onde cada parcela foi constituída de três plantas.

## **2.7 Influência do extrato bruto de barbatimão sobre o crescimento micelial do fungo *F. guttiforme***

O extrato bruto de barbatimão em pó foi diluído em meio de cultura líquido BD (Batata e Dextrose), nas concentrações de 0, 2, 4, 6 e 8% (m/v). Dois discos de 0,7 cm de diâmetro da cultura de cada um dos isolados do fungo foram colocados em tubos de ensaio, contendo meio de cultura líquido BD, tratado com as respectivas concentrações de EBB. Esses tubos contendo amostras do fungo permaneceram sob agitação de 140 rpm e temperatura de 25°C, durante 7 dias. Ao final do sétimo dia, separou-se a cultura do fungo do meio líquido, por meio de filtragem a vácuo. Em seguida, o micélio do fungo foi colocado em estufa de ventilação forçada por 48 horas e/ou massa constante. Após esse processo, pesou-se a massa seca do micélio em balança de precisão (E= 0,0001g). O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x5, sendo 4 isolados do fungo (PLA 1, PLA 2, FRU 1 e FRU 2) e 5 concentrações 0, 2, 4, 6 e 8%(m/v) de extrato bruto de barbatimão, com três repetições cada.

## **2.8 Efeito preventivo e curativo do extrato bruto de barbatimão sobre a fusariose do abacaxizeiro**

Para a avaliação do efeito do extrato bruto de barbatimão como produto preventivo e curativo, utilizou-se a mesma metodologia empregada no estudo da urina de vaca. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 5x4, sendo 5 concentrações de extrato bruto de barbatimão (0, 2, 4, 6 e 8%) e 4 isolados do fungo (PLA 1, PLA 2, FRU 1 e FRU 2), com três repetições, com duas plantas por parcela, totalizando-se 120 plantas, distribuídas em 60 parcelas.

## 2.9 Análise estatística

As avaliações quanto à severidade foram realizadas por dois avaliadores e utilizaram-se as médias das avaliações para a análise estatística. Os dados obtidos, quando necessário, foram transformados em  $\sqrt{(x)}$ , e submetidos à análise de variância e regressão, sendo as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O crescimento micelial do *F. guttiforme* foi influenciado pela interação entre os fatores (isolados *versus* concentrações de urina de vaca) em ambos experimentos, utilizando urina de vaca filtrada ou autoclavada (TAB. 1 e 2).

O isolado PLA 2 se diferenciou dos demais isolados, apresentando menor diâmetro de colônia nas concentrações 2 e 4% (TAB. 2). Com base na equação do GRAF. 1 para o isolado PLA 2, tem-se que a concentração de 3,86% ocasionou uma redução de aproximadamente 62% no diâmetro da colônia desse isolado. Em contrapartida, o crescimento do isolado PLA 1 não foi alterado pelas concentrações de UVM (GRAF. 1). Enquanto o restante dos isolados, FRU 1 e FRU 2, sofreu ligeiras reduções no seu crescimento entre as concentrações de 0 e 4% e depois demonstrou aumentos gradativos na taxa de crescimento nas concentrações 6 e 8% (TAB. 2).

No GRAF. 1, são descritas as equações para os isolados FRU 1 e FRU 2, de acordo com esses dados as concentrações de 5,07 e 4,31% proporcionaram maiores reduções no diâmetro de micélio do fungo.

**TABELA 1**

Potencial hidrogeniônico (pH) dos meios de cultura tratados com urina de vaca

Esterilização da urina de vaca	Concentrações (v/v)				
	0%	2%	4%	6%	8%
<b>Filtro Millipore - UVM</b>	5,89	7,47	7,90	8,03	8,12
<b>Autoclavagem - UVA</b>	6,20	7,11	7,14	7,21	8,03

Fonte: Elaborada pela autora

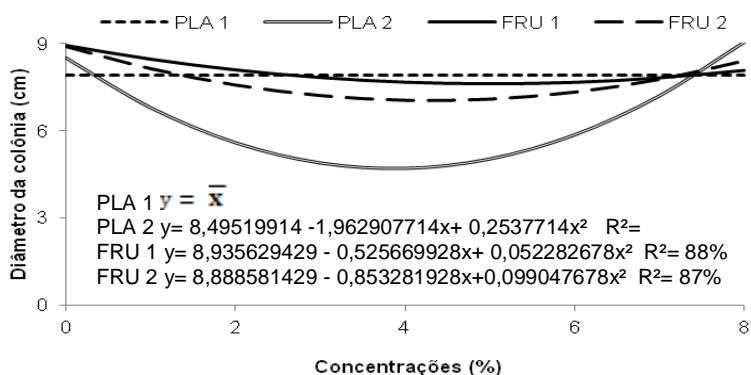
**TABELA 2**

Diâmetro de colônia (cm) de quatro isolados de *Fusarium guttiforme*, cultivados em meios de cultura contendo urina de vaca filtrada em millipore - UVM

Isolados	Concentrações (v/v)				
	0%	2%	4%	6%	8%
<b>PLA 1</b>	8,99a	7,36a	7,62a	7,93a	7,71a
<b>PLA 2</b>	9,00a	5,00 b	3,43 b	8,13a	8,11a
<b>FRU 1</b>	9,00a	8,05a	7,43a	8,04a	7,93a
<b>FRU 2</b>	9,00a	7,47a	6,72a	7,90a	8,18a
<b>CV (%)</b>	8,50				

Fonte: Elaborada pela autora

Nota: As médias seguidas de mesma letra, na coluna, não se diferenciam estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.



**GRÁFICO 1** – Diâmetro da colônia de quatro isolados de *Fusarium guttiforme*, incubados em meio contendo urina de vaca esterilizada em filtro Millipore – UVM

Fonte: Elaborado pela autora

O método utilizado para esterilizar a urina de vaca provavelmente alterou a sua composição, quanto às possíveis substâncias ali presentes. Na concentração de 6% de UVA, o isolado FRU 2 apresentou o menor diâmetro de colônia, em comparação com os isolados PLA 1, PLA 2 e FRU 1 (TAB. 3)

Assim como ocorreu no experimento anterior, o isolado PLA 2 se diferenciou dos demais isolados, quando cultivado em meio contendo UVA nas concentrações 2 e 4% (TAB. 3), mas as concentrações de urina de vaca não influenciaram o crescimento desse isolado (GRAF. 2).

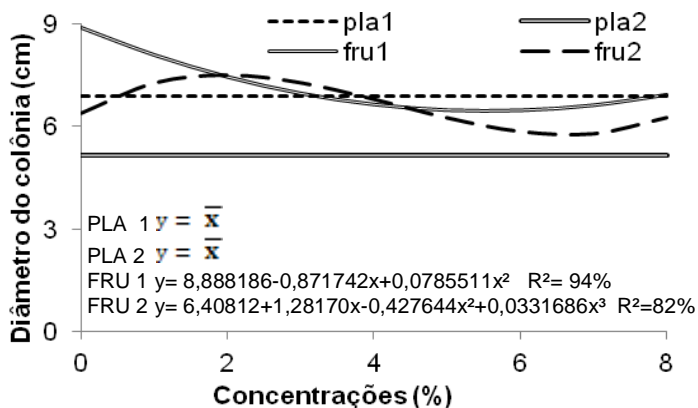
TABELA 3

Diâmetro de colônia (cm) de quatro isolados de *Fusarium guttiforme*, cultivados em meios de cultura contendo urina de vaca autoclavada - UVA

Isolado	Concentrações (v/v)				
	0%	2%	4%	6%	8%
PLA 1	6,40 b	7,17a	7,23a	6,82a	6,85a
PLA 2	5,67 b	5,85 b	6,05 b	6,50a	6,52a
FRU 1	9,00a	7,13a	7,03a	6,47a	6,90a
FRU 2	6,47 b	7,18a	7,17a	5,63 b	6,33a
CV (%)	8,11				

Fonte: Elaborada pela autora

Nota: As médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferenciam pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.



**GRÁFICO 2** - Diâmetro de colônia de quatro isolados de *Fusarium guttiforme*, ao sexto dia de incubação, em meio contendo urina de vaca autoclavada – UVA

Fonte: Elaborado pela autora

O isolado FRU 1 apresentou um menor diâmetro da colônia, com aumento da concentração de UVA. A maior redução (23%) no crescimento foi verificado para o isolado FRU 1. Já o diâmetro de colônia do isolado PLA 1

não foi influenciado pela adição de urina de vaca autoclavada ao meio de cultura BDA (GRAF. 2).

Os isolados PLA 2, FRU 1 e FRU 2 utilizados nesta pesquisa tiveram o seu comportamento afetado pela adição da urina de vaca ao meio de cultura. Não foi observada a completa inibição do crescimento micelial do *F. guttiforme* isolados, como em trabalhos descritos na literatura.

Os diferentes comportamentos verificados nos isolados, quando cultivados em meios de cultura tratados com UVM e UVA, podem estar ligados às variações no pH (TAB. 1), à disponibilidade de nutrientes e, também, ao teor de alguns substâncias presentes no meio de cultura.

De acordo com Diehl e Steadman (1981), as variações no pH do meio de cultura podem interferir as características de crescimento do micélio, esporulação, germinação de esporos, na produção de substâncias metabólicas e sobrevivência do fungo. Adisa (1983) estudou a influência dos fatores ambientais no crescimento e patogenicidade de seis fungos causadores de podridão em abacaxi: *Ceratocystis paradoxa* (Dade) C. Moreau, *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuill., *R. oryzae* Went & Prins. Geerl., *Curvularia verruculosa* Tandon & Bilgrami, *Aspergillus flavus* Y. Sasaki e *Penicillium claviforme* Bainier e observou que o maior crescimento da maioria dos fungos testados foi obtido em pH entre 6,5 e 8.

As variações do pH também influenciaram o crescimento “*in vitro*” do *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. . Nesse caso, o fungo apresentou maior crescimento, quando submetido a crescimento em meio contendo pH 6,1, pH 7,2, pH 5, pH 4 e pH 9,5, nessa ordem (DIEHL; STEADMAN, 1981).

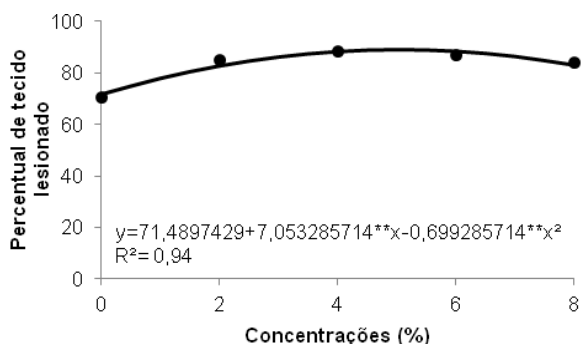
Alonso *et al.* (1994) utilizaram a urina de vaca filtrada em Millipore, com membranas de porosidade maior (0,45  $\mu\text{m}$ ), que não foram capazes de impedir a contaminação do meio por bactérias contidas na própria urina e também a urina de vaca autoclavada. Esses autores relataram que, em ambos os experimentos, o *F. guttiforme* foi totalmente controlado. Entretanto os autores utilizaram concentrações mais elevadas, em torno de 65%, que foram bem maiores do que as utilizadas na presente pesquisa.

Pesagro (1994) testou urinas de vacas, provenientes de rebanho tratado com produtos químicos (carrapaticida, vermífugo, vacinas, etc.) e de

animais que não receberam esses tipos de produtos. Esse autor verificou que ambas inibiram o desenvolvimento do *F. guttiforme*. Diante desse resultado, o autor concluiu que as substâncias capazes de controlar o *F. guttiforme* não estão associadas a esses produtos químicos. Singh e Chaube (1971) descrevem que o catecol tem se mostrado altamente tóxico para alguns fungos, como *Fusarium* sp. e *Alternaria* sp. e esse composto fenólico, encontrado na urina de vaca, pode ser o responsável pelo controle de patógenos.

### 3.1 Efeito da urina de vaca sobre a fusariose do abacaxizeiro

Os tratamentos das mudas com urina de vaca, nas concentrações testadas, não apresentaram efeito na proteção e na cura das plantas contra a fusariose do abacaxi. Não houve efeito da interação entre os fatores (isolados *versus* concentrações de urina de vaca) em nenhum dos experimentos realizados em esquema fatorial. Entretanto houve efeito da urina de vaca sobre a severidade da doença, independente do isolado testado (GRAF. 3).



**GRÁFICO 3** – Percentagem de tecido lesionado, em função do tratamento preventivo realizado com diferentes concentrações de urina de vaca

Fonte: Elaborado pela autora

Os dados referentes à severidade da fusariose em plantas tratadas, preventivamente, com urina de vaca são apresentados na TAB. 4. Os quatro isolados de *F. guttiforme* apresentaram severidade semelhante nas plantas

de abacaxi. A severidade da fusariose em todos os isolados atingiu níveis altos, atingindo 50% (FIG. 1).

**TABELA 4**

Influência dos isolados de *F. guttiforme* e do tratamento preventivo com diferentes concentrações de urina de vaca sobre a porcentagem de tecido lesionado pela fusariose, em mudas de abacaxizeiro

Isolados	Concentrações <sup>ns</sup>					Média <sup>ns</sup>
	0%	2%	4%	6%	8%	
<b>PLA 1</b>	66,67	60,00	60,00	60,00	50,00	<b>59,33</b>
<b>PLA 2</b>	65,00	100,00	93,33	100,00	100,00	<b>91,67</b>
<b>FRU 1</b>	50,00	93,33	100,00	93,33	93,33	<b>86,00</b>
<b>FRU 2</b>	100,00	86,67	100,00	93,33	93,33	<b>94,67</b>
<b>CV(%)</b>	<b>28,69</b>					

Fonte: Elaborada pela autora

Nota: <sup>ns</sup> Não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade.



**FIGURA 1** - Mudanças de abacaxi com sintomas internos de fusariose:

(A) Apodrecimento estendendo-se a até 100% da base de muda

(B) Apodrecimento estendendo-se a até 50% da base de muda

A aplicação de urina de vaca em concentrações até 5,04% gerou um aumento na severidade da doença. Doses acima desse valor ocasionaram redução da porcentagem de tecido lesionado (GRAF. 3).



A análise de variância dos dados referentes ao tratamento curativo com urina de vaca demonstrou que há diferença entre os isolados, porém, por meio do teste de médias aplicado, não foi possível fazer distinção entre os isolados (PLA 1 e 2, FRU 1 e 2). Os isolados PLA 1 e FRU 2 se destacaram, por comprometerem mais de 85% dos tecidos internos das mudas, apesar de não ter sido observada diferença estatística entre os isolados (TAB. 4).

De forma geral, todos os isolados de *F. guttiforme* foram mais agressivos no tratamento preventivo do que no tratamento curativo, exceto o isolado PLA 1, que, no método curativo, aumentou em 26% o percentual de tecido lesionado em mudas, quando comparado ao método preventivo (TAB. 4 e 5). Já as plantas inoculadas com o isolado PLA 2 apresentaram redução de 29% na área infectada pelo patógeno (TAB. 4 e 5).

**TABELA 5**

Influência dos isolados de *F. guttiforme* e do tratamento curativo com diferentes concentrações de urina de vaca sobre a porcentagem de tecido lesionado pela fusariose, em mudas de abacaxizeiro

Isolados	Concentrações <sup>ns</sup>					Média*
	0%	2%	4%	6%	8%	
PLA 1	86,67	83,33	80,00	86,67	93,33	<b>86,00 a</b>
PLA 2	30,00	66,67	76,67	70,00	70,00	<b>62,67 a</b>
FRU 1	86,67	66,67	76,67	76,67	73,33	<b>76,00 a</b>
FRU 2	93,33	60,00	93,33	93,33	93,33	<b>86,67 a</b>
Média <sup>ns</sup>	<b>74,17</b>	<b>69,17</b>	<b>81,67</b>	<b>81,67</b>	<b>82,50</b>	
<b>CV(%)</b>	<b>18,44</b>					

Fonte: Elaborada pela autora

Nota: As médias seguidas de mesma letra não se diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. \*Significativo pelo teste F a 5% de probabilidade. <sup>ns</sup> Não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade.

Diferentemente do ocorrido no tratamento preventivo, a urina de vaca, quando utilizada de forma curativa, não influenciou a severidade da doença (TAB. 5).

A ação preventiva da urina pode estar relacionada à sua ação sobre a germinação dos conídios, pois, segundo Ferreira (2008), a urina de vaca a 5 e 10% foi capaz de reduzir a germinação dos conídios de *F. subglutinans* f. sp. *ananas* em até 30%, nas primeiras 9 horas de incubação. Mas também, com a sua ação sobre o crescimento micelial do fungo, como demonstrado, por meio dos dados do experimento de crescimento micelial do fungo em meio de cultura contendo urina de vaca filtrada, já apresentado anteriormente. Nesse experimento, a urina nas concentrações 2 e 4% reduziram o diâmetro da colônia do patógeno.

Outra hipótese de ação é que a urina de vaca ative mecanismos de resistência das plantas, pois, conforme SEMANA DO FAZENDEIRO (2006), a urina de vaca é capaz de controlar a fusariose do abacaxi, por possuir, em sua constituição, substâncias indutoras de resistência da planta ao patógeno. Porém essa ação não foi confirmada nesta pesquisa.

Assim como os resíduos dos medicamentos ingeridos pelos bovinos são excretados na urina, os resíduos de sua alimentação também são. A composição da ração fornecida ao rebanho pode afetar os teores de determinadas substâncias e nutrientes encontrados na urina de vaca (ALONSO *et al.*, 1994), o que poderia explicar as diferenças encontradas entre os resultados obtidos na presente pesquisa e os resultados obtidos por outros autores.

A urina de vaca também não foi capaz de estimular os mecanismos de defesa em mudas de abacaxi, como pode ser observado na TAB. 6. Todas as plantas tratadas com urina de vaca se mantiveram em níveis de severidade semelhantes aos da testemunha (0%). Os dados obtidos para massa fresca das plantas demonstraram que, até os 60 dias de cultivo, as aplicações de urina de vaca, nessas condições, não estimularam o aumento da massa fresca (TAB. 6).

**TABELA 6**

Porcentagem de tecido lesionado pela fusariose e aumento da massa fresca em mudas de abacaxizeiro tratadas com concentrações crescentes urina de vaca

<b>Porcentagem de urina de vaca</b>	<b>Severidade (%)<sup>ns</sup></b>	<b>aumento da massa fresca (%)<sup>ns</sup></b>
<b>0%</b>	75	22,5
<b>2%</b>	72,5	46,42
<b>4%</b>	82,5	8,04
<b>6%</b>	65	18,75
<b>8%</b>	77,5	14,08
<b>CV (%)</b>	<b>15,06</b>	<b>38,84</b>

Fonte: Elaborada pela autora

Nota:<sup>ns</sup> Não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade.

O parâmetro massa fresca pode ter sido influenciado pela severidade da doença, pois poucas plantas emitiram raízes ao longo dos 60 dias de condução do experimento, o que proporcionou um grande número de indivíduos que tiveram o ganho de massa fresca igual a zero. Essas plantas que não formaram raízes também não conseguiram absorver nutrientes do substrato, utilizando-se de reservas celulares para realizarem as reações metabólicas necessárias.

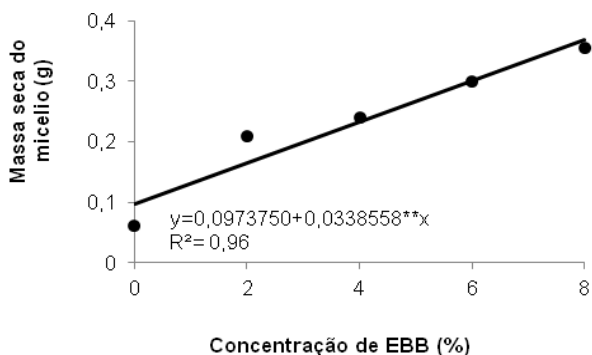
Resultados positivos do tratamento com urina de vaca foram obtidos pela Pesagro (1994). Os pesquisadores descrevem que a urina de vaca a 50%, quando aplicada antes do plantio, pode controlar a incidência de fusariose em até 42%, podendo chegar a 100%, em alguns casos. Na presente pesquisa, os resultados positivos quanto à utilização da urina foram também pelo seu uso preventivo, porém reduzindo a severidade da doença.

Martelleto (1995) testou a urina de vaca a 25% de forma preventiva, em folhas destacadas e mudas de abacaxizeiro. Nesse trabalho, o pesquisador avaliou a severidade da doença, verificando que a urina de vaca

não foi capaz de reduzir a severidade da doença. Essas informações são semelhantes às encontradas na presente pesquisa.

### 3.2 Crescimento micelial de *Fusarium guttiforme* em concentrações de barbatimão

A análise dos dados de massa seca do micélio demonstrou que houve um incremento no crescimento do fungo, independentemente do isolado testado. No GRAF. 4, verificou-se que o aumento da massa do *F. guttiforme* foi diretamente proporcional ao aumento das concentrações de EBB. A massa do fungo tratado com a maior concentração 8% de EBB foi três vezes maior que a concentração 0%, inferindo que o extrato não restringiu o crescimento, pelo contrário, proporcionou o aumento da massa em todos os isolados.



**GRÁFICO 4** – Efeito das concentrações do extrato de barbatimão sobre a massa seca do micélio de *F. guttiforme*, incubado a 25°C, sob agitação constante, por 7 dias.

Fonte: Elaborado pela autora

### 3.3 Efeito do extrato de barbatimão sobre a fusariose do abacaxizeiro

Nos testes realizados para avaliar a ação preventiva e curativa do extrato de barbatimão, verificou-se que não houve efeito da interação entre os fatores (isolados *versus* concentrações de extrato) em nenhum dos experimentos. Todas as mudas tiveram mais de 50% dos seus tecidos internos atingidos pelo fungo, demonstrando que os isolados colonizaram rapidamente o hospedeiro (TAB. 7 e 8).

**TABELA 7**

Influência dos isolados de *F. guttiforme* e do tratamento preventivo com diferentes concentrações de extrato de barbatimão sobre a porcentagem de tecido lesionado pela fusariose, em mudas de abacaxizeiro

Isolados	Concentrações (m/v) <sup>ns</sup>					Média
	0%	2%	4%	6%	8%	
PLA 1	100,00	83,33	93,33	100,00	100,00	<b>95,33 ab</b>
PLA 2	70,00	80,00	60,00	66,67	93,33	<b>74,00 c</b>
FRU 1	76,67	100,00	60,00	76,67	100,00	<b>82,67 bc</b>
FRU 2	100,00	100,00	100,00	93,33	100,00	<b>98,67a</b>
<b>Média<sup>ns</sup></b>	<b>85,45</b>	<b>90,83</b>	<b>78,33</b>	<b>84,17</b>	<b>98,33</b>	
<b>CV(%)</b>	<b>9,36</b>					

Fonte: Elaborada pela autora

Nota: As medias seguidas de mesma letra, na coluna, não se diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. <sup>ns</sup>Não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade.

**TABELA 8**

Influência dos isolados de *F. guttiforme* e do tratamento curativo com diferentes concentrações de extrato de barbatimão sobre a porcentagem de tecido lesionado pela fusariose, em mudas de abacaxizeiro

Isolados	Concentrações (m/v) <sup>ns</sup>					Média <sup>ns</sup>
	0%	2%	4%	6%	8%	
<b>PLA 1</b>	93,33	66,67	93,33	93,33	100,00	<b>89,33</b>
<b>PLA 2</b>	60,00	93,33	93,33	83,33	73,33	<b>80,67</b>
<b>FRU 1</b>	76,67	100,00	93,33	100,00	93,33	<b>92,67</b>
<b>FRU 2</b>	76,67	93,33	86,67	100,00	86,67	<b>88,67</b>
<b>Média<sup>ns</sup></b>	<b>76,67</b>	<b>88,33</b>	<b>91,67</b>	<b>94,17</b>	<b>88,33</b>	
<b>CV(%)</b>	<b>13,39</b>					

Fonte: Elaborada pela autora

Nota: <sup>ns</sup>Não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade.

Entretanto os dados obtidos no controle preventivo permitiram maior diferenciação entre os isolados, quanto à porcentagem de área colonizada. Observando-se os resultados desta pesquisa, notou-se que os isolados mais agressivos foram FRU 2 e PLA 1, seguidos dos isolados FRU 1 e PLA 2. Ao contrário do que se esperava, o extrato de barbatimão não apresentou ação preventiva. O fungo foi tão severo nas plantas tratadas com o produto quanto nas mudas que não receberam tratamento (TAB. 7).

Uma hipótese para esse efeito do extrato de barbatimão no aumento da massa do *Fusarium* pode estar relacionada à produção e à utilização do tanino no patossistema *Fusarium*-abacaxi. Isto é, o abacaxizeiro produz tanino. Microorganismos, como o *Fusarium*, podem degradá-lo, pela ação da enzima tanase. Bajpai e Patil (1997) avaliaram fungos produtores de tanase; entre eles o *Fusarium* e sugerem a utilização do *F. solani* para a produção dessa enzima. Talvez outras espécies do gênero, como *F. guttiforme*, também possam apresentar a capacidade de produzir enzimas que degradem o tanino, já que o seu hospedeiro (abacaxizeiro) produz tanino nas folhas e no caule.

Os taninos são substâncias solúveis em água e capazes de formar complexos insolúveis em água com alcaloides, gelatina e outras proteínas. Atribui-se o controle de insetos, fungos e bactérias à propriedade dos taninos de complexarem proteínas (SIMÕES *et al.*, 2004).

O extrato de barbatimão possui propriedades bactericidas já comprovadas, como foi demonstrado por Souza *et al.* (2007) e Soares *et al.* (2008), porém tal ação não foi comprovada para fungos, na presente pesquisa.

Santos *et al.* (2001a) quantificaram os polifenóis existentes em plantas de abacaxi, produzidos no município de Lavras-MG. Esses autores observaram que há 0,81 e 0,61% de tanino nas folhas e no caule, respectivamente. Segundo Battestin *et al.* (2004), os teores de tanino em um vegetal podem variar conforme as condições climáticas e geográficas de cada região. Os taninos condensados e hidrolisáveis são usados principalmente como mecanismo de defesa contra herbívoros (SIMÕES *et al.*, 2004).

A degradação de taninos pode ser realizada por bactérias, fungos, leveduras, tanase microbiana e interações com a microflora do tratogastrointestinal de ruminantes. Pinto *et al.* (2005), estudando a estrutura, a produção e a aplicação da tanase, relatou que alguns microrganismos são capazes de sintetizar essa enzima em seu metabolismo, para sobreviverem em meios que contenham tanino.

Marques *et al.* (2002) realizaram estudos com extratos da folha, do botão floral e do fruto de pequi ( *Caryocar brasiliense* Camb.) sobre a germinação de esporos dos fungos *Botrytis cineria*, *Colletotrichum truncatum* e *Fusarium oxysporum*. Esses autores verificaram a presença de substâncias polares, o que esses consideram que possam ser taninos, nos extratos e que a germinação dos esporos dos fungos não foi inibida pelos mesmos.

Estudos realizados por Ferreira (2008) demonstraram que o extrato aquoso de barbatimão nas concentrações de 5, 10 e 15% também não foi capaz de controlar a fusariose do abacaxizeiro em mudas. A autora também admite que o *F. guttiforme* é capaz de produzir enzimas que degradem o

tanino, o que possibilitaria a sobrevivência e a disseminação do fungo em plantas que contenham essa substância.

#### 4 CONCLUSÃO

A urina de vaca filtrada em concentrações de 3,86, 5,07 e 4,31% reduz o crescimento, respectivamente, dos isolados de *Fusarium guttiforme* PLA 2, FRU 1 e FRU 2.

A urina de vaca autoclavada em concentrações até 5,54% reduz o crescimento micelial do isolado de *Fusarium guttiforme* FRU 1.

A urina de vaca autoclavada, na concentração de 6% reduz o crescimento do isolado FRU 2.

A urina de vaca aplicada no abacaxizeiro até 60 dias após o plantio não contribui para o aumento da massa fresca das plantas.

O extrato bruto de barbatimão (*Stryphonodendron adstringens*) estimula o crescimento do *Fusarium guttiforme*. A massa seca do micélio aumenta com o aumento das concentrações do extrato bruto de barbatimão até 8%.

O extrato bruto de barbatimão não inibe a infecção e o desenvolvimento do *F. guttiforme* em abacaxizeiro.



**REFERÊNCIAS**

ADISA, V. A. The effects of some environmental factors on the growth and pathogenicity of six pineapple fruit rot pathogens. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 8, n. 1, p. 37-46, fev. 1983.

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5 ed. Amsterdam: Elsevier, 2004. 922 p.

ALFENAS, S. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em fitopatologia**. Viçosa, MG: UFV, 2007. 382 p.

ALONSO, S. K. BARRETO, M.; COSTA, A. F.; SILVA-ACUNA, R.; ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A.. Efeito da urina de vaca no crescimento *in vitro* de *Fusarium subglutinans*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 19, n. 2, p. 235-237, 1994.

ALVES, G. A. R. **Sobrevivência de *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* em solos de diferentes procedências e incorporação de matéria orgânica**. 2006. 61 f. Dissertação (Mestrado em agronomia, área de concentração Biologia) – Universidade Rural da Amazônia, Belém, 2006.

AQUIJE, G. M. F. V.; ZORZAL, P. B.; BUSS, D. S.; VENTURA, J. A.; FERNANDES, P. M. B.; FERNANDES, A. A. R. Cell wall alterations in the leaves of fusariosis-resistant and susceptible pineapple cultivars. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 29, n. 10, p.1109-1117, 2010.

BAJPAI, B.; PATIL, S. Induction of tannin acyl hidrolase (EC 3.1.1.20) activity in some members of *fungi imperfecti*. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 20, n. 8, p. 612-614, 1997.

BALBI-PEÑA, M. I.; BECKER, A.; STANGARLIN, J. R.; FRANZENER, M. C. L.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e curcumina: II. Avaliação *in vivo*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 31, n. 4, p. 401-404, 2006.

BATTESTIN, V.; MATSUDA, L. K.; MACEDO, G. A. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, Marília, SP, v. 15, n. 1, p. 63-72, 2004.

BERGAMIM FILHO, A. **Manual de fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Agronomica Ceres, 1997. v. 2.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Métodos alternativos usados com sucesso no Brasil para o controle de doenças de plantas. In: STADNIK, M. J.; TALAMINI, V. (Ed.). **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis, SC: CCA/UFSC, 2004. p.143-157.

BETTIOL, W. Produtos alternativos para el manejo de enfermedades en cultivos comerciales. **Revista Fitossanidade**. La Habana, Cuba, v. 10, n. 2, p. 85-98, jun. 2006.

BIZI, R. M. **Alternativas de controle do mofo-cinzento e do oídio em mudas de eucalipto**. 2006. 70 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

BORRÁS, O.; SANTOS, R.; MATOS, A. P.; CABRAL, R. S.; ARZOLA, M. A first attempt to use a *Fusarium subglutinans* culture filtrate for the selection of pineapple cultivars resistant to fusariosis disease. **Plant Breeding**, Berlin, v. 120, n. 5, p.435-438, 2001.

BRANDÃO, M. G. L.; COSENZA, G. P.; MOREIRA, R. A.; MONTE-MOR, R. L. M. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. **Revista Brasileira Farmacognosia**, Curitiba, PR, v. 16, n. 3, p. 408-420, 2006

BRENNAN, J. M.; FAGAN, B.; VAN MAANEN, A.; COOKE B. M.; DOOHAN, F. M. Studies on *in vitro* growth and pathogenicity of European *Fusarium* fungi. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, Holanda, NL, v. 109, n. 6, p. 577–587, 2003.

BROEK, R. V. D.; IACOVINO, G. D.; PARADELA, A. L.; GALLI, M. A. Controle Alternativo de oídio (*Erysiphe cichoracearum*) em quiabeiro (*Hibiscus esculentum*). **Revista Ecosystema**, Espírito Santo do Pinhal, SP, v. 27, n. 1, p. 23-26, jan–dez 2002.

CABRAL, J. R. S. CASTELLEN, N. S.; SOUZA, F. V. D.; MATOS, A. P.; FERREIRA, F. R. **Banco ativo de germoplasma de abacaxi**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 32p. (Documentos, n. 146)

CAMPANHOLA, C; BETTIOL, W; RODRIGUES, G. S. Evolução, situação atual, projeção e perspectivas de sucesso de um Programa de racionalização do uso de agrotóxicos no Brasil. In: RACIONALIZACIÓN del uso de pesticidas en el Cono Sur. Montevideo: PROCISUR, 1998. p. 43-49. (Diálogo, n. 50).

CARMO, M.; CORRÊA, F. Uso de biofertilizante no controle de doenças de plantas. In: VENZON, M.; JÚNIOR, T.; PALLINI, A. **Tecnologias alternativas para controle de pragas e doença**. Viçosa: EPAMIG, 2006. Cap. 5, p. 103-112.

CASTELLÁ, G.; MUNKVOLD, G. P.; IMERMAN, P.; HYDE, W. G. Effects of temperature, incubation period and substrate on the production of fusaproliferin by *Fusarium subglutinans* ITEM 2404. **Natural Toxins**, New York, v. 7, n. 4, p. 129–132. 1999.

CASTRO, C. M.; SANTOS, A. C. V.; AKIBA, F. Comprovação *in vitro* da ação inibidora do biofertilizante “Vairo” produzido a partir da fermentação anaeróbica do esterco bovino, sobre a germinação de conídios de diversos gêneros de fungos fitopatogênicos. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, 4, 1991, Campinas. **Anais...** Jaguariúna: Embrapa-CNPJMA, 1991. p.18.

COOK, R. J.; CHRISTEN, A. A. Growth of cereal root-rot fungi as affected by temperature–water potential interactions. **Phytopathology**, Saint Paul, Minn. v. 66, n. 2, p. 193–197, 1976.

COSTABEBER, J. A. Transição agroecológica: rumo à sustentabilidade. **Revista Agriculturas**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 3, p. 2. out. 2006.

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

CUNHA, G. A. P. Abacaxi: manejo cultural e mercado. In: SEMANA INTERNACIONAL DA FRUTICULTURA, FLORICULTURA E AGROINDÚSTRIA, 10., 2003, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Instituto Frutal, 2003. p. 10-63.

DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Basic plant pathology methods**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 1995. 355 p.

DINMET. 5ª Estação Meteorológica do Instituto Nacional de Meteorologia. Montes Claros, MG. **Temperatura média e umidade relativa do ar**. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br>>

DOOHAN, F. M.; BRENNAN, J.; COOKE, B. M. Influence of climatic factors on *Fusarium* species pathogenic to cereals. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, Holanda, NL, v. 109, p.755–768, 2003.

FENNER, R.; BETTI, A. H.; MENTZ, L. A.; RATES, S. M. K. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, SP, v. 42, n. 3, p. 369-394, jul-set. 2006.

FERREIRA, F. A. **Patologia florestal: principais doenças florestais no Brasil**. Viçosa: Sociedade de Investigações florestais, 1989. 570p.

FERREIRA, I. C. P. V. **Uso de preparados homeopáticos, extrato aquoso de barbatimão e urina de vaca no controle da fusariose no abacaxi (*Ananas comosus*)**. 2008. 74 f. Monografia (Bacharel em Agronomia) - Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, MG, 2008.

FAO. FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **The statistics division: major food and agricultural commodities and producers**. Disponível em: <[www.fao.org](http://www.fao.org)> Acesso em: 01 dez. 2008.

GLIESSMAN, S. R. **Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável**. 3. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2001. 653p.

HAVORTH, P. J. **The nutritional and ecological significance of Acer-tannins and related polyphenols**. 1981. Thesis (Master of Science) - Cornell University, Ithaca, NY. *apud* REED, J.D. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. **Journal of Animal Science**, Champaign, Ill., v. 73, n. 5, p. 1516-1528, may 1995. Disponível em <<http://jas.fass.org/cgi/reprint/73/5/1516.pdf>>. Acesso em: 8 dez. 2008.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Dados da safra de abacaxi no Brasil**. Disponível em <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp>>. Acesso em: 01 de fev. 2010.

ITAKO, A. T.; KÁTIA, R. F.; SCHWAN-ESTRADA, K. R.F.; TOLENTINO JUNIOR, J.; STARLING, J. R.; SILVA CRUZ, M. E. Atividade antifúngica e proteção do tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, DF, v. 33, n. 3, p. 241-244, maio-jun. 2008.

JACOBS, A. VAN WYK, P. S.; MARASAS, W. F. O.; WINGFIELD, B. D.; WINGFIELD, M. J.; COUTINHO, T. A. *Fusarium ananatum* sp. nov. in the *Gibberella fujikuroi* species complex from pineapples with fruit rot in South Africa. **Fungal Biology**, Oxford, GB, v. 114, n. 7, p. 515-527, 2010.

JORGE, F. C.; BRITO, P.; PEPINO, L.; PORTUGAL, A.; GIL, H.; COSTA, R. P. Aplicações para as cascas de árvores e para os extractos taninosos: uma revisão. **Silva Lusitana**, Lisboa, v. 9, n. 2, p. 225-236, 2001.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Eds.) **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo. Ceres, 2005. v. 2.

KRYCHAK-FURTADO, S. **Alternativas fitoterápicas para o controle da verminose ovina no estado do paraná: testes *in vitro* e *in vivo***. 2006. 147 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Departamento de fitotecnia e fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2006.

LEACH, C. M. Sporulation of diverse species of fungi under near ultraviolet radiation. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 40, n. 1, p. 151-161. 1967.

LIMA, V. P.; REINHARDT, D. H.; COSTA, J. A. Desbaste de mudas tipo filhote do abacaxi cv. Pérola: 2: análises de crescimento e de correla es. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, v. 24, n. 1, p. 101-107, 2002.

LOPES, G. C.; SANCHES, A. C. C.; TOLEDO, C. E. M.; ISLER, A. C.; MELLO, J. C. P. Determina o quantitativa de taninos em três espécies de *Stryphnodendron* por cromatografia líquida de alta eficiência. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 45, n. 1, p. 135-143, jan-mar. 2009.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002. 512 p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2 ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008. 544 p.

MANICA, I. **Abacaxi: do plantio ao mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2000. 122 p.

MARQUES, M. C. S.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; GAVILANES, M. L.; SOUZA, J. A.; PEREIRA, N. E.; NEGRÃO, I. O. Efeito fungitóxico dos extratos de *Caryocar brasiliense* Camb. sobre os fungos *Botrytis cineria*, *Colletotrichum truncatum* e *Fusarium oxysporum*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, MG, n. esp., p. 1410-1419, dez. 2002

MARTELLETO, L. A. P. **Estudos sobre controle biológico e virulência de *Fusarium subglutinans* Nelson, Toussoun, Marasas. Incitante da fusariose do abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merrill) e sobre o efeito da temperatura ambiente no seu desenvolvimento**. 1995. 91 f. Disserta o (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1995.

MATOS, A. P.; CABRAL, J. R. S. Manejo integrado da fusariose do abacaxizeiro. **Abacaxi em Foco**, Cruz das Almas, BA, n. 32, out. 2005. Disponível em: <[http://www.cnpmf.embrapa.br/publicacoes/produto\\_em\\_foco/abacaxi\\_32.pdf](http://www.cnpmf.embrapa.br/publicacoes/produto_em_foco/abacaxi_32.pdf)> Acesso em: 10 abr. 2007.

MATOS, A. P.; SANCHES, N. F.; TEIXEIRA, F. A.; SIMÃO, A. H.; GOMES, D. C.; JUNIOR, J. E. **Monitoramento da fusariose em plantios de abacaxi “pérola” conduzidos em sistema de produção integrada no estado do Tocantins**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2009. 36 p. (Documentos, n. 184)

MELLO, M. R. F. **Efeito de bactérias na promoção de crescimento e no biocontrole da fusariose em mudas de abacaxi micropropagadas**. 2001. 108 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2001.

NELSON, P. E.; DIGNANI, M. C.; ANAISSIE, E. J. Taxonomy, biology, and clinical aspects of fusarium speciest. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, DC, v. 7, n. 4, p. 479-504, Oct. 1994.

OLIVEIRA, A. M. G.; CABRAL, J. R. S.; SOUZA, L. F. S.; REINHARDT, D. H. **Informações básicas para o cultivo de abacaxi de sequeiro no municípios de Santa Cruz Cabrália e Porto Seguro, Bahia**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 2 p. (Documentos, n. 26).

ORLANDO, S. C. **Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcolólico bruto da casca do *Stryphondron adstrigens* (Mart.) Coville (Barbatimão)**. 2005. 88 f. Dissertação. (Mestrado em Produção de Saúde) – Programa de Pós Graduação em Produção de Saúde, Universidade de Franca, Franca, 2005.

PESAGRO. Rio de Janeiro. Ricardo Sergio de Sarmiento Gadelha; Regina Celia Alves Celestino. **Composição da urina (fluido biológico bovino) e métodos para utilização no controle de fungos e bactérias, como fertilizante e estimulante de crescimento, como estimulante de enraizamento, como herbicida, como transportadora e fixadora de substâncias, para aumentar os teores de sólidos solúveis, como estimulante de floração, para aumentar o tempo de duração do fruto na planta e para tratamento pós colheita**. BR. n. PI 9301910-6, 17 jun. 1993, 20 dez. 1994.

PETTITT, T. R.; PARRY, D. W.; POLLEY, R. W. Effect of temperature on the incidence of nodal foot rot symptoms in winter wheat crops in England and Wales caused by *Fusarium culmorum* and *Microdochium nivale*. **Agricultural and Forest Meteorology**, Amsterdam, NL, v. 79, n. 4, p. 233–242, May 1996.

PINTO, G. A. S.; COURI, S.; LEITE, S. G. F.; BRITO, E. S. Tanase: conceitos, produção e aplicação. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 23, n. 2, p. 435-462, jul-dez. 2005.

PISSARRA, T. B.; CHAVES, G. M.; VENTURA, J. A. Sintomatologia da fusariose (*Fusarium moniliforme* Sheld. var. *subglutinans* WR. e REINK) do abacaxizeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 4, n. 2, p. 255-265, jun. 1979.

REED, J. D. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. **Journal of Animal Science**, Champaign, Ill., v. 73, n. 5, p. 1516-1528, May 1995. Disponível em: <<http://jas.fass.org/cgi/reprint/73/5/1516.pdf>>. Acesso em: 8 dez. 2008.

REINHARDT, D. H. **Abacaxi produção e aspectos técnicos**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2007. Disponível em: <[http://www.embrapa.br/mandioca\\_e\\_fruticultura](http://www.embrapa.br/mandioca_e_fruticultura)>. Acesso em: 03 de abril de 2007.

SANTANA, M. V.; VAZ, A. B.; SOUZA, T. P.; BRITO, M. R.; SANTOS, A.; PORTO, P. C. Efeitos de controles alternativos na severidade da mancha púrpura da cebolinha no município de Vitória da Conquista, BA. **Revista da Associação Brasileira de Horticultura**, Porto Seguro, BA, v. 25, n. 1, p. 35 supl., ago. 2007.

SANTOS, B. A.; ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A.; VALE, F. X. R. Severidade de isolados de *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* sensíveis e resistentes ao benomyl em abacaxizeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, n. 1, p.101-103, jan-fev. 2002.

SANTOS, M. A. T.; NEPOMUCENO, A. S.; ABREU, C. M. P.; CARVALHO, V. D. Teores de polifenóis de caule e folha de quatro cultivares de abacaxizeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, v. 23, n. 2, p. 274-276, ago. 2001a

SANTOS, R. L. M. S.; MATOS, A. P.; CABRAL, J. R. S. Avaliação da infecção com *Fusarium subglutinans* em diferentes tipos de folhas de abacaxizeiro. **Magistra**, Cruz das Almas, BA, v. 13, n. 1, jan-jun. 2001b. Disponível em: <<http://www.magistra.ufrb.edu.br/publica/magist13/01-13-04c.html>> Acesso em: 03 de abril de 2007

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, Curitiba, PR, v. 30, n. 1/2, p. 129-137, 2000.

SEMANA DO FAZENDEIRO, 28, 2006. Uruçuca (BA) **Agenda**: caderno I. Uruçuca: CEPLAC/CENEX/EMARC, 2006. v. 2. 426 p.

SILVA, A. C.; SALES, N. L. P.; ARAUJO, A. V.; CALDEIRA JUNIOR, C. F. Efeito *in vitro* de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* penz. isolado do maracujazeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, MG, v. 33, n. esp., p. 1853-1860, 2009.

SILVA, C. R. R. **Fruticultura tropical**, Lavras, MG: UFLA/FAEPE, 2001. 178p.

SILVA, M. B.; NICOLI, A.; COSTA, A. S. V.; BRASILEIRO, B. G.; JAMAL, C. M.; SILVA, C. A.; PAULA JUNIOR, T. J.; TEIXEIRA, H. Ação antimicrobiana de extratos de plantas medicinais sobre espécies fitopatogênicas de fungos do gênero *Colletotrichum*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, SP, v. 10, n. 3, p. 57-60, 2008.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. Porto Alegre; Florianópolis: UFRGS; UFSC. 2004. 1004 p.

SIMÃO, S. **Tratado de fruticultura**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 249-285.

SINGH, R. S.; CHAUBE, H. S. Toxicity of catecol to *Alternaria* spp. **Mycopathologia**, Den Haag, NL, v. 44, n. 4, p. 373-378, 1971.

SOARES, S. P.; VINHOLIS, A. H. C.; CASEMIRO, L. A.; SILVA, M. L. A.; CUNHA, R. W.; MARTINS, C. H. G. Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico bruto de *Stryphnodendron adstringens* sobre microorganismos da cárie dental. **Revista Odonto Ciência**, Porto Alegre, RS, v. 23, p.141-144, 2008.



SOUZA JUNIOR, I. T.; SALES, N. L. P.; MARTINS, E. R. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. **Biotemas**, Florianópolis, SC, v. 22, n. 3, p. 77-83, set. 2009.

SOUZA, T. M.; SEVERI, J. A.; SILVA, V. Y. A.; SANTOS, E.; PIETRO, R. C. L. R. Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae). **Revista de Ciências Farmaceuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, SP, v. 28, n. 2, p. 221-226, 2007.

STADNIK, M. J.; TALAMINI, V. (Ed.). **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis, SC: CCA/UFSC, 2004. 293 p.

TEIXEIRA, M. L.; SOARES, A. R.; SCOLFORO, J. R. Variação do teor de tanino da casca de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Caville) em 10 locais de Minas Gerais. **Ciência e Prática**, Lavras, MG, v. 14, n. 2, p.117-236, maio-ago.1990.

VASCONCELOS, M. C. A; RODOVALHO, N. C. M.; POTT, V. J.; FERREIRA, A. M. T.; ARRUDA, A. L. A.; MARQUES, M. C. S.; CASTILHO, R. O.; BUENO, N. R. Avaliação de atividades biológicas das sementes de *Stryphnodendron obovatum* Benth (Leguminosae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, SP, v. 14, n. 1, p.121-127, 2004.

VENTURA, J. A. Taxonomia do *Fusarium* e seus segregados: parte II - chaves para identificação. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, RS, v. 8, p.303-338, 2000.

VENTURA, J. A.; ZAMBOLIM, L. Controle das doenças do abacaxizeiro. In: ZAMBOLIM, L; VALE, F. X. R.; MONTEIRO, A. J. A.; COSTA, H. **Controle de doenças de plantas fruteiras**. Viçosa, MG: UFV, 2002. Cap. 8, p.445-509.

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

VENTURA, J. A.; COSTA, H.; CAETANO, L. C. Abacaxi 'vitória': uma cultivar resistente à fusariose. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, v. 31, n. 4, p.931-1233, [2006?]

XAVIER, C. C. O. **Manejo alternativo de oídio (*Sphaerotheca fuliginea*) em abóbora de moita**. 2007. 33 f. Monografia (Bacharel em Agronomia) - Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, MG, 2007.