

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO  
CARLOS ALBERTO REYES MALDONADO - UNEMAT  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE  
PLANTAS**

**PEDRO SÁVIO SOUSA NUNES DA SILVA**

**Indução de resistência à *Fusarium guttiforme* em genótipos de  
abacaxizeiro no município de Tangará da Serra - Mato Grosso**

**TANGARÁ DA SERRA  
MATO GROSSO – BRASIL  
MARÇO – 2021**

**PEDRO SÁVIO SOUSA NUNES DA SILVA**

**Indução de resistência à *Fusarium guttiforme* em genótipos de abacaxizeiro no município de Tangará da Serra - Mato Grosso**

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

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Dejânia Vieira de Araújo  
Coorientador: Prof. Dr. Ílio Fealho de Carvalho

**TANGARÁ DA SERRA  
MATO GROSSO – BRASIL  
MARÇO – 2021**

Luiz Kenji Umeno Alencar – CRB1 2037

S586i SILVA, Pedro Sávio Sousa Nunes da.

Indução de resistência à *Fusarium guttiforme* em genótipos de Abacaxizeiro no município de Tangará da Serra-Mato Grosso / Pedro Sávio Sousa Nunes da Silva. – Alta Floresta/Cáceres/Tangará da Serra, 2021. 70 f. ; 30 cm. (ilustrações) Il. color. (sim ).

Trabalho de Conclusão de Curso (Dissertação/Mestrado) – Curso de Pós-graduação *Stricto Sensu* (Mestrado Acadêmico) Genética e Melhoramento de Plantas, Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Multicampi, Universidade do Estado de Mato Grosso, 2021.

Orientadora: Dra. Dejânia Vieira de Araújo.

Coorientador: Dr. Ilio Fealho de Carvalho.

1 . Fusariose. 2. Indutores. 3. Enzimas. I. Araújo, D. V. de, Dra.  
II. Carvalho, I. F. de, Dr. III. Título.

CDU 634.774(817.2)

# **Indução de resistência à *Fusarium guttiforme* em genótipos de abacaxizeiro no município de Tangará da Serra Mato Grosso**

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

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Dejânia Vieira de Araújo.  
Coorientador: Prof. Dr. Ílio Fealho de Carvalho

Aprovada em 05 de março de 2021.

Comissão examinadora:

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Dejânia Vieira de Araújo  
Orientadora - UNEMAT - Universidade do Estado de Mato Grosso

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Beatriz Meireles Barguil  
Universidade Estadual do Piauí - UESPI

---

Prof. Dr. Willian Krause  
UNEMAT - Universidade do Estado de Mato Grosso

***“Ainda que eu caminhe por vale tenebroso, não temerei mal nenhum, porque tu estás junto a mim; teu bastão e teu cajado me deixam tranquilo”.***

**(Salmo 23:22)**

A Deus por me guiar, fortalecer e proteger durante toda minha trajetória.  
Aos meus pais por me acompanharem em todos os momentos, pelas orações, amor  
e amizade.  
Aos meus irmãos Sauma, Saulo Júnior e minha namorada Amanda Alves pelo amor  
e companheirismo,  
**Dedico.**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me mostrar os melhores caminhos, as melhores pessoas, por me levantar quando me prostrei no chão. Graças e louvores sejam dados a Ti, Senhor de imensa bondade.

Aos meus pais, Maria de Fátima e Saulo, que mesmo longe estiveram comigo em orações, por lutarem tanto para que esse sonho fosse realizado. Meu eterno agradecimento e amor.

Aos meus irmãos Sauma, Saulo Júnior, meu cunhado Felipe e a toda minha família por todo carinho e apoio que sempre me deram. A vocês, meu eterno agradecimento e amor.

A minha namorada Amanda Alves pelo amor, confiança e por sempre enxugar minhas lágrimas quando eu mais precisei. A você meu eterno amor.

À professora Dra. Dejânia Vieira de Araújo, agradeço pela orientação, confiança, paciência, compreensão, pelo crescimento profissional e oportunidade.

Ao professor Dr. Ílio Fealho de Carvalho, pelo auxílio na realização dessa pesquisa e conhecimento compartilhado.

Aos meus amigos de mestrado, em especial Altacis, Annie, Cynthia, Douglas, Érika, Fernanda, Givanildo, Jeferson, Vera, pelo apoio e desafios superados juntos.

Aos colegas de trabalho do Laboratório de Fitopatologia, em especial, André Luiz, Beatriz Ramos, Ellen Barnabé, Felipe Bertan, João Vitor, Josiane, Kamila, Mayara Coelho, Márcia, Matheus, Rafaela, Tiago Bettoni, Vitor Cabral, Weverton Rochesk, sem os quais com certeza eu não conseguiria ter atingido meu objetivo.

Aos meus amigos Dayanne Castro, João Vitor que tanto me ajudaram durante esses dois anos. Minha eterna gratidão.

Aos funcionários da UNEMAT que contribuíram para a realização desse trabalho, em especial ao Edilson, Rosângela, Mariana, Rafael. Minha eterna gratidão.

À Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT) e ao programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas pela oportunidade. Aos professores do Programa, em especial às Professoras Dra. Isane Vera Karsburg e Dra. Celice Alexandre.

Aos professores Dr. Willian Krause e Dra. Beatriz Meireles Barguil, por terem aceitado o convite para participar da minha banca de defesa, contribuindo desta forma com meu trabalho e minha formação acadêmica.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES).

## **BIOGRAFIA**

Pedro Sávio Sousa Nunes da Silva – nasceu no dia 23 de Maio de 1996 em Picos – PI, Brasil. Filho de Maria de Fátima Sousa da Silva e Saulo de Tarso Nunes da Silva. Concluiu o Ensino Médio no Colégio Estadual Francisca Pereira de Sousa Moraes, na cidade de Fronteiras – PI, no ano de 2012. Licenciado em Ciências Biológicas, em dezembro de 2018 pela Universidade Regional do Cariri (URCA), Unidade Descentralizada de Campos Sales – CE. Bolsista do projeto de Extensão Universitária no projeto intitulado: “Ação integrada para promoção de uma agricultura sustentável no entorno do Parque Natural Municipal Boqueirão, distrito Itaguá, Campos Sales – CE”. Bolsista do projeto de Extensão Universitária no projeto intitulado: “Educação sanitária como prática de prevenção de parasitoses Intestinais em escolares do município de Campos Sales – CE. Voluntário de Iniciação Científica no projeto intitulado “Avaliação da incidência de parasitoses intestinais em crianças de escolas públicas em Campos Sales – CE”. Mestrando em Genética e Melhoramento de Plantas pela UNEMAT no período de fevereiro de 2019 a março de 2021.

## SUMÁRIO

RESUMO GERAL .....	x
ABSTRACT .....	xi
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
2.1. O abacaxizeiro ( <i>Ananas comosus</i> L. Merrill).....	3
2.2. Fusariose do abacaxizeiro.....	5
2.3. Manejo da doença por indução de resistência em plantas.....	6
2.3.1. Acibenzolar-s-metílico: indutor abiótico de resistência .....	8
2.3.2. <i>Bacillus subtilis</i> : indutor biótico de resistência.....	9
2.3.3. Ecolife®: indutor abiótico de resistência.....	10
2.4. Custos na indução de resistência.....	11
2.5. Enzimas envolvidas na indução de resistência .....	12
2.5.1. Peroxidases.....	12
2.5.2. Polifenoloxidasas .....	13
2.5.3. Fenilalanina amônia-liase.....	14
2.5.4. $\beta$ -1,3-glucanases.....	14
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	16
3.1. Condução do experimento .....	16
3.2. Delineamento experimental.....	16
3.3. Avaliação da severidade da doença.....	17
3.4. Teste de presença (TP) de <i>Fusarium guttiforme</i> .....	18
3.5. Avaliação das características vegetativas .....	18
3.6. Análises enzimáticas .....	19
3.6.1. Determinações da atividade de Polifenoloxidase e Peroxidase .....	19
3.6.2. Determinação da atividade de $\beta$ -1,3-glucanase .....	20
3.6.3. Determinação da atividade de Fenilalanina amônia-liase .....	20
3.6.4. Proteínas totais .....	21
3.7. Análise dos dados .....	21
4. RESULTADOS .....	22
4.1. Massa seca .....	25
4.2. Avaliações dos efeitos dos indutores na fusariose.....	26

4.3. Peroxidase (POX) .....	29
4.4. Polifenoloxidase (POP) .....	31
4.5. Fenilalanina amônia-liase (PAL).....	32
4.6. $\beta$ -1,3 glucanase (GLU) .....	34
5. DISCUSSÃO .....	36
5.1. Avaliações dos efeito dos indutores na fusariose.....	37
5.2. Peroxidase (POX) .....	39
5.3. Polifenoloxidase (POP) .....	40
5.4. Fenilalanina amônia-liase (PAL).....	41
5.5. $\beta$ -1,3 glucanase (GLU) .....	41
6. CONCLUSÕES .....	43
APÊNDICE .....	<u>44</u>
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	<u>47</u>

## RESUMO GERAL

SILVA, Pedro Sávio Sousa Nunes da; M. Sc; UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO CARLOS ALBERTO REYES MALDONADO, março de 2021; **Indução de resistência à *Fusarium guttiforme* em genótipos de abacaxizeiro no município de Tangará da Serra Mato Grosso**: Professora orientadora: Dejânia Vieira de Araújo.

O Brasil destaca-se como um dos maiores produtores de abacaxi (*Ananas comosus*) do mundo, mas a fusariose, considerada como a principal doença desta cultura, vem ocasionando perdas elevadas na produção. Uma alternativa de manejo para essa doença, é através da aplicação de agentes bióticos e abióticos, que induzam resistência na planta. Dessa forma, esta pesquisa foi realizada com o objetivo de avaliar a eficiência de indutores de resistência para controle da fusariose do abacaxizeiro em cultivares, como também verificar o comportamento de enzimas relacionadas à patogênese e influência dos elicitores nas características vegetativas. Foram utilizados os tratamentos: T0- Testemunha sem aplicação de indutor e sem inoculação do patógeno; T1- Testemunha sem aplicação de indutor e com inoculação do patógeno; T2- acibenzolar-S-metílico (ASM); T3- *B. subtilis*; T4- Biomassa cítrica, T5- ASM + *B. subtilis* e T6- Biomassa cítrica + *B. subtilis*. O delineamento experimental empregado foi o de blocos casualizados em arranjo fatorial 7x2 (indutores de resistência x cultivares), contendo 3 repetições, cada parcela com 5 plantas, no qual as mesmas plantas foram utilizadas para análise enzimática, como também para análise da severidade da doença. Para avaliação da massa seca utilizou-se duas plantas de cada repetição por cultivar. As coletas para análise enzimática de peroxidase, polifenoloxidase, fenilalanina amônia-liase,  $\beta$ -1,3-glucanase e proteínas totais foram realizadas as 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a inoculação de *Fusarium guttiforme*. As plantas tratadas com *B. subtilis* e em conjunto com ASM e Biomassa cítrica manifestaram maior crescimento vegetativo em ambas cultivares, entretanto apenas os indutores Biomassa cítrica e Biomassa cítrica + *B. subtilis* proporcionaram o melhor controle da fusariose no genótipo suscetível. Além disso, foi possível verificar incremento da atividade de todas as enzimas por meio da ação dos indutores em ambos genótipos.

**Palavras-chave:** fusariose, indutores, enzimas

## ABSTRACT

SILVA, Pedro Sávio Sousa Nunes da; M. Sc; UNIVERSITY OF THE STATE OF MATO GROSSO CARLOS ALBERTO REYES MALDONADO, March 2021; **Induction of resistance to *Fusarium guttiforme* in pineapple genotypes in the town Tangará da Serra, Mato Grosso**: Mentoring Professor: Dejánia Vieira de Araújo.

Brazil stands out as one of the largest pineapple producers (*Ananas comosus*) in the world, but fusariosis, considered as the main disease of this crop, has been causing high losses in production. A management alternative for this disease is through the application of biotic and abiotic agents, which induce resistance in the plant. Thus, this research was carried out with the objective of evaluating the efficiency of resistance inducers for controlling pineapple fusarium disease in cultivars, as well as verifying the behavior of pathogenesis-related enzymes and the influence of elicitors on vegetative characteristics. Treatments used were: T0- Control without application of inducer and without inoculation of the pathogen; T1- Control without application of inducer and with inoculation of the pathogen; T2- acibenzolar-S-methyl (ASM); T3- *B. subtilis*; T4- Citric biomass, T5- ASM + *B. subtilis* and T6- Citric biomass + *B. subtilis*. The experimental design used was a randomized block in a 7x2 factorial arrangement (resistance inducers x cultivars), containing 3 replicates, each plot with 5 plants, in which the same plants were used for enzymatic analysis, as well as for analyzing the severity of the disease. To evaluate the dry mass, two plants from each repetition per cultivar were used. Collections for enzymatic analysis of peroxidase, polyphenoloxidase, phenylalanine ammonia lyase,  $\beta$ -1,3-glucanase and total proteins were performed at 24, 48, 72, 96 and 120 hours after inoculation of *Fusarium guttiforme*. Plants treated with *B. subtilis* and together with ASM and citrus biomass showed greater vegetative growth in both cultivars, however only the inducers citrus biomass and citrus biomass + *B. subtilis* provided the best control of fusariosis in the susceptible genotype. In addition, it was possible to verify an increase in the activity of all enzymes through the action of inducers in both genotypes.

**Keywords:** fusariosis, inductors, enzymes

## 1. INTRODUÇÃO

O Abacaxi (*Ananas comosus* L. Merrill) é uma das frutas mais populares no comércio mundial de frutas tropicais. De acordo com a FAO (2019), as exportações de abacaxi subiram em 2019 para 3,1 milhões de toneladas, seguindo um crescimento de 3,1 por cento ou aproximadamente 100.000 toneladas a partir de 2018. Estima-se que até 2029 a produção mundial desse fruto poderá chegar a 33 milhões de toneladas (FAO, 2020).

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais do fruto com uma produção de 1.617.684 toneladas (IBGE, 2019), tendo o principal destino ao mercado interno de frutas frescas, como também em menor proporção para indústria de sucos e processados (CONAB, 2020). Desta produção, 2,21% (35.846 toneladas) corresponde ao estado de Mato Grosso, com ênfase no município de Tangará da Serra o maior polo abacaxicultor do estado, com área plantada e colhida de 230 há<sup>-1</sup> e com um rendimento médio de 35.000 frutos há<sup>-1</sup> (IBGE, 2019).

Apesar de ainda não ter uma produção tão representativa em relação aos outros grandes produtores, o estado de Mato Grosso apresenta grande potencial abacaxicultor. Visto que o mesmo apresenta condições endofoclimáticas propícias para propagação da cultura (Secretaria de Estado da agricultura familiar - SEAF, 2018).

Entretanto, um dos principais fatores que limitam a produção de abacaxi no Brasil são as doenças, dentre elas, a fusariose causada pelo fungo *Fusarium guttiforme* (Reinhardt e Cunha, 2006). Essa doença foi relatada pela primeira vez no estado de São Paulo em frutos da cultivar Smooth Cayenne (Kimati e Tokeshi, 1964), se espalhando pelo Brasil e outros países sul-americanos. Esse fungo acomete todas as partes da planta, causando perdas em torno de 30 a 40% nos frutos e cerca de 20% nas mudas (Ventura et al., 2009), que são contaminadas na fase inicial de desenvolvimento, quando ainda estão aderidas à planta-mãe (Ventura e Zambolim, 2002).

A utilização de um manejo adequado, que vai desde a eliminação de plantas doentes e restos culturais, como também a aplicação do controle químico, são as formas de minimizar o aparecimento da doença (Nogueira et al., 2014). Porém essas

medidas proporcionam um aumento no custo de produção e podem ocasionar problemas na saúde dos produtores, consumidores e impactos ao meio ambiente.

Dessa maneira, no final do século vinte as pesquisas se intensificaram no que diz respeito ao uso de indução de resistência e tiveram eficiência na redução da intensidade de várias doenças (Kuhn e Pascholati, 2010). Esse fenômeno envolve a ativação de mecanismos que estão latentes nas plantas em resposta a um agente biótico ou abiótico, manifestando controle sobre patógeno de maneira indireta (Hammerschmidt e Dann, 1997; Bonaldo et al., 2005).

A indução de resistência inicia-se quando um agente externo (elicitador) se liga a um possível receptor na superfície da célula vegetal e através dele o sinal primário é transmitido para o interior da célula, ativando os mensageiros secundários, que aumentam o sinal e regulam a expressão de genes específicos, determinando o desenvolvimento de interações compatíveis, isto é, a doença na planta ou incompatíveis quando a planta apresenta resistência (Leite et al., 1997).

Dependendo da natureza do agente elicitador, mecanismos bioquímicos diferentes são ativados nas plantas podendo desencadear respostas distintas. A Resistência sistêmica adquirida (RSA) é ativada por patógenos ou agentes químicos no qual envolve acúmulo de proteínas relacionadas à patogênese (PRPs), sendo mediada pela rota do ácido salicílico. Em contrapartida, geralmente a Resistência Sistêmica Induzida (RSI) se manifesta por um microrganismo não patogênico, sendo que essa rota não tem acúmulo de PRPs além de ser dependente do jasmonato e etileno (Métraux, 2001).

Com isso, esta pesquisa foi realizada com o objetivo de avaliar a eficiência de indutores de resistência para controle da fusariose do abacaxizeiro em cultivares, como também verificar o comportamento de enzimas relacionadas à patogênese e influência dos elicitores nas características vegetativas.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. O abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. Merril)

O Brasil é considerado como centro de diversidade genética de abacaxizeiro, pois apresenta todas as espécies do gênero *Ananas* tanto na forma silvestre, como também em cultivos (Ferreira e Cabral, 1994). A região Amazônica pode ser considerada como o centro de origem de *Ananas*, mais precisamente nas seguintes coordenadas geográficas 10° N a 10° S de latitude e 55 ° L a 75 ° W de longitude, por serem encontradas a maioria das espécies válidas do gênero *Ananas* (Leal e Antoni, 1981).

O abacaxizeiro é pertencente à família bromeliaceae, subclasse das monocotiledôneas, apresenta grande resistência à seca, mas sensível ao frio (Queiroz et al., 2002). A grande parte das cultivares de abacaxizeiro pertence à espécie *Ananas comosus* (L.) Merril, espécie diploide, apresentando  $2n=2x=50$ , havendo também variedades poliploides do gênero *Ananas* (Cotias-de-Oliveira et al., 2000). A planta apresenta ciclos bem estabelecidos: Fase vegetativa - que dura do plantio a floração com duração de 5 a 12 meses; Fase reprodutiva ou formação do fruto - que apresenta duração de 5 a 6 meses; e fase propagativa - no qual produz dois tipos de mudas, do tipo filhote que perdura de 4 a 10 meses, e mudas do tipo rebentão de 2 a 6 meses (Silva et al., 2004).

A anatomia do abacaxizeiro é composta por um caule curto e grosso, no qual crescem folhas ao redor em formato de calhas. As folhas são classificadas, segundo a forma e posição na planta, em A, B, C, D, E e F, da mais velha e externa para a mais nova e interna (Reinhardt et al., 2000). Segundo Siebeneichler et al. (2008), a folha "D" é referência para análise de teores dos nutrientes sua posição na planta forma um ângulo de 45° com a superfície do solo. No caule insere-se, também, o pedúnculo que sustenta a inflorescência, que dará origem ao fruto (Reinhardt et al., 2000), que é normalmente cilíndrico ou ligeiramente cônico, constituído por 100 a 200 pequenas bagas ou frutinhos fundidos entre si sobre o eixo central ou coração (Granada et al., 2004).

Não existe sementes provenientes de frutos de plantações comerciais de abacaxi, haja vista que as plantas são autoestéreis (Brewbaker e Gorrez 1967;

Reinhardt e Cunha, 2006). A formação do fruto não depende de fecundação (Reinhardt e Cunha, 2006). Entretanto, a polinização cruzada entre variedades ou espécies, pode levar à formação de sementes (Coppens D'eeckenbrugge et al., 1993). Com isso, esse fenômeno permite a reprodução sexuada, sendo de grande valia para os trabalhos de melhoramento genético, tendo em vista híbridos que apresentam características superiores às das cultivares em uso, tais como a resistência à fusariose ao ataque de cochonilhas e de nematoides, e ausência de espinhos nas folhas (Reinhardt e Cunha, 2006).

O meio usual e natural de propagação do abacaxizeiro é por meio do plantio das mudas, com formação de diferentes partes da planta (Santos et al., 2011). A sanidade e vigor da planta irão depender das condições ambientais e do manejo adotado no cultivo, embora as mudas de abacaxizeiro realizem fotossíntese presente na planta-mãe, o seu desenvolvimento depende das suas reservas como também da atividade da mesma. O ciclo da planta e comportamento são determinados pelo tipo de muda que lhe deu origem (Reinhardt e Cunha, 2006).

Diversos tipos de mudas de abacaxi podem ser utilizados no plantio: coroa - brotação no ápice do fruto, filhote - brotação do pedúnculo (haste que sustenta o fruto), rebentão - brotação nas bainhas das folhas no caule, filhote - rebentão - brotação da haste na inserção do pedúnculo com o caule, plântula - originada a partir de seccionamento do caule, além de mudas provenientes da técnica de cultura de tecidos. Entretanto, a muda do tipo filhote é a mais disponível e mais utilizada no Brasil, principalmente em plantios da cultivar Pérola (Reinhardt e Cunha, 2006; Silva et al., 2004).

As variedades de abacaxi mais conhecidas foram divididas em cinco grupos distintos; Cayenne, Spanish, Queen, Pernambuco e Mordilonus - Perolera), classificadas de acordo com algumas características como porte da planta, formato do fruto e morfologia das folhas (Py et al., 1984). Com o avanço dos trabalhos de melhoramento do abacaxizeiro, novos híbridos foram desenvolvidos com resistência à fusariose pela Embrapa Mandioca e Fruticultura; BRS Imperial (Perolera x Smooth Cayenne), BRS Vitória (Primavera x Smooth Cayenne), BRS Ajubá (Perolera x Smooth Cayenne) (Matos et al., 2011), e pelo Instituto Agrônomo de Campinas; IAC Fantástico (Smooth Cayenne x Tapiracanga) (IAC, 2010).

## 2.2. Fusariose do abacaxizeiro

A abacaxicultura vem sendo acometida por inúmeros patógenos, que acarretam inúmeras perdas na produtividade e qualidade dos frutos que terão como destino o mercado consumidor. Dentre as principais doenças de importância econômica para o abacaxizeiro, a fusariose (*Fusarium guttiforme*, Nirenberg e O'Donnell), é a enfermidade que proporciona mais danos na cultura (Reinhardt e Cunha 1999; Silva, 2007; Souza et al., 2017).

*F. guttiforme* é um fungo da família Tuberculariaceae (Kimati et al., 2005), causador da fusariose anteriormente conhecido como *F. moniliforme* Sheldon var. *subglutinans* e posteriormente descrita como *F. guttiforme* por Nirenberg e O'Donnell (1998). A espécie produz macroconídios hialinos, caracterizados por possuírem células basais, além de apicais diferenciadas, utilizadas na taxonomia de espécies (Ventura, 2000). Possuem microconídios obovoides em polifiálides, com falsas cabeças, e ausência de clamidósporo (Leslie e Summerell, 2006). Apresenta fase telemórfica correspondente ao ascomiceto *Gibberella fujikuroi* (Saw) Wf (Kimati et al., 1997).

O fungo penetra normalmente por meio de ferimentos naturais na base das mudas, ocasionado por insetos e ácaros ou por meio do canal estilar e dos ductos nectários no período da antese (Kimati et al., 1997), fase do estágio fenológico mais suscetível à infecção pelo *F. guttiforme* (Melo, 2016). Além disso, o vento, como também danos nos frutos provocados pela broca dos frutos, e vários insetos também contribuem para disseminação do patógeno, como *Apis melífera*, *Bitoma* sp., *Bombus* sp., *Laginia villosa*, *Trigona spinipes* (Kimati et al., 1997).

*F. guttiforme* apresenta especificidade fisiológica para cultura do abacaxizeiro, entretanto, não apresenta estruturas de resistências, nem fases saprofíticas, portanto não consegue sobreviver por longos períodos no solo, mas pode perdurar em folhas de abacaxi e em plantas daninhas (Verzignassi et al., 2006).

Os sintomas no abacaxizeiro vão desde lesões em pedúnculo dos frutos, folhas, raízes e nas demais partes das plantas, como também curvatura do ápice do caule, encurtamento do talo, alteração da roseta foliar, morte do ápice do caule e exsudação de goma (Verzignassi et al., 2006). Dentre esses sintomas, a exsudação

de resina é o mais característico, sendo muitas vezes o principal indício que a enfermidade está presente nos plantios.

Conhecida principalmente como uma doença pré-colheita, devido aos principais sintomas se manifestarem na planta antes da colheita dos frutos. A fusariose, é de grande importância econômica também no período pós-colheita, devido aos danos causados nos frutos, que impactam diretamente a comercialização (Melo, 2016).

A fusariose em fruteiras pode prejudicar totalmente a produção, as que causam doenças nas partes aéreas inviabilizam os frutos ocasionando podridões, já as espécies patogênicas habitantes de solo são as mais difíceis de se ter controle, responsáveis por ocasionar podridões radiculares, na base do tronco e murchas vasculares (Matos et al., 2012).

Como foi citado anteriormente, o fungo é altamente destrutivo para a cultura do abacaxi, no qual o produtor necessita tomar uma série de medidas para combatê-lo, dentre elas: a eliminação de plantas e restos culturais que servirão como fonte de inóculo, plantio de variedades resistentes e o uso de controle químico, no qual o uso inadequado pode contaminar os frutos como também possibilitar o aumento da resistência do fitopatógeno (Zambolim et al., 2002).

Diante disso, se faz necessário a utilização de medidas alternativas no controle das principais doenças que acometem a cultura. A indução de resistência é uma opção amplamente viável, tendo em vista que o uso proporciona uma diminuição na utilização de defensivos agrícolas e em algumas culturas potencializa a produção, além de ser possível utilizar cultivares suscetíveis que possuem uma maior aceitação no mercado consumidor (Métraux, 2001; Nandakumar et al., 2001; Melo, 2016).

### **2.3. Manejo da doença por indução de resistência em plantas**

As plantas apresentam mecanismos de defesa múltiplos, além de muito eficientes. A resistência natural das plantas aos patógenos já são existentes independente da sua presença no sítio de infecção (Barros et al., 2010). Alguns desses mecanismos de resistência estão inativos ou latentes, no qual são ativados após serem submetidos à ação de agentes de indução (Bonaldo et al., 2005).

A indução de resistência em plantas aos patógenos está relacionada com um processo denominado “priming”, esse fenômeno condiciona as células vegetais responderem a um estímulo contra estresses ocasionado por patógenos, insetos herbívoros, ferimentos ou estresses abióticos, tornando as respostas de defesa das plantas, mais rápidas, efetivas e intensas. Um efeito proveniente desse fenômeno é o chamado “estado de priming transgeracional”, no qual é possível transmitir a resistência por meio de plantas parentais para descendência de forma epigenética (Ramírez-Carrasco et. al., 2017; Pascholati; Dalio, 2018).

A ativação desses mecanismos de defesa na planta ocorre por sucessivos eventos e sinais que iniciam com a identificação do agente agressor que proporciona a ativação de barreiras físicas e químicas que estão presentes no processo. As defesas utilizadas pelas plantas durante a indução de resistência, dividem-se basicamente em: resistência sistêmica adquirida (SAR) e resistência sistêmica induzida (ISR) (Fernandes et al., 2009).

A SAR se manifesta localmente ou de forma sistêmica em resposta a um agente patogênico, que pode ter eficácia na invasão ao hospedeiro ou manifestar uma resposta de hipersensibilidade. Essa resistência está relacionada com a produção de proteínas associadas à patogênese (PR-Proteínas) e compostos sinalizadores como é o caso do ácido salicílico (Van Loon et al., 1998; Fernandes et al., 2009; Meyer et al., 2019).

A síntese de PR-Proteínas é um processo observado durante a interação entre planta e patógeno. As proteínas do grupo PR-1, conseguem induzir resistência aos fungos, já a PR-2 e PR-3 tem ação enzimática, na qual tem a capacidade de destruir estruturas presentes na composição da parede dos fungos como também do esqueleto externo de insetos. É tido ainda, que as proteínas PR-3 que são responsáveis por decompor quitina, possuem a função de liberar indutores por meio da parede celular do patógeno que são detectados pela planta, assim ativando o sistema de defesa (Barros et al., 2010).

A ISR se desenvolve sistemicamente sem ocasionar necrose e sem acúmulo de proteínas relacionadas à patogênese, mediada por uma rota sensível que tem por compostos precursores o ácido jasmônico (AJ) e o etileno (ET), as plantas manifestam a ISR especialmente quando são expostas a microrganismos não patogênicos, no

qual induzem a ativação de defesa (Pieterse e Van Loon, 1999; Dallagnol e Araújo, 2018).

Com base nisso, a utilização de indutores bióticos e abióticos é uma alternativa promissora no controle de diversas doenças. No abacaxizeiro vem apresentando resultados promissores na redução da fusariose e podridão negra, uma das principais moléstias que acometem a cultura como relata Oliveira e Nascimento (2009) e Melo (2016).

### **2.3.1. Acibenzolar-s-metílico: indutor abiótico de resistência**

Os avanços em pesquisas envolvendo indução de resistência em plantas vêm sendo acompanhados pelo surgimento de novos produtos comerciais que apresentam maior eficácia, estabilidade e menor impacto à saúde dos seres humanos e meio ambiente (Resende et al., 2007). Dentre esses produtos, o Ester-S-Metil do ácido benzo-(1,2,3)-triazazole-7-carbotióico ou ASM, disponível comercialmente como Inssimo®, Bion® e Actigard® (Walters et al., 2005) foi o primeiro indutor liberado para o uso comercial (Resende et al., 2007). Desde então, alguns produtos estão no mercado ou sendo utilizados em pesquisas para indução de resistência: Ecolife® (Cruz et al., 2011), Serenade® (Silva, 2018), Fosfito de potássio (Silva et al., 2019), entre outros.

O ASM é um dos indutores mais estudados mundialmente, tem a capacidade de induzir resistência em muitas culturas contra doenças ocasionadas por fungos, bactérias e vírus. Em monocotiledôneas, como é o caso do abacaxizeiro, apresenta efeito duradouro. Age na planta de forma sistêmica não tendo ação direta contra patógenos, possui a capacidade de substituir o ácido salicílico (AS), na via natural do sinal da SAR (Cole, 1999; Resende et al., 2000; Oostendorp et al., 2001).

Esse análogo do AS, induz a ativação de genes que codificam proteínas relacionadas com a patogênese, como por exemplo:  $\beta$ ,1-3 glucanase e quitinase que têm a capacidade de degradar a parede celular de fungos e bactérias patogênicos (Dallagnol et al., 2006). Não obstante, enzimas associadas com a produção de fitoalexinas e lignina são produzidas pela ação desse produto (Cole, 1999; Resende et al., 2000).

No Brasil, o ASM apresenta-se registrado pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), recomendado para as culturas do algodão, batata, cacau (mudas), citros (mudas), feijão, melão e tomate, entre outras (MAPA, 2015). O mesmo teve eficácia avaliada em vários patossistemas, deixando claro que sua efetividade pode sofrer variação de acordo com a cultura e o patógeno estudado (Louws et al., 2001; Silva, 2002).

### **2.3.2. *Bacillus subtilis*: indutor biótico de resistência**

A rizosfera pode ser conceituada como a região onde o solo e as raízes entram em contato. Esse local é colonizado por muitos microrganismos que se alimentam das substâncias que são produzidas pelas plantas. As rizobactérias, são organismos que colonizam de maneira agressiva as raízes, sendo a maioria gram-negativas, flageladas e não esporuladas (Kloepper e Schroth 1978; Bruehl, 1987). Alguns desses microrganismos são benéficos, e podem atuar de maneira simbiote, beneficiando as plantas através da produção de substâncias que são absorvidas (Queiroz, 2003).

A utilização de alguns microrganismos antagônicos, vem sendo utilizada como método alternativo para o controle biológico de muitos fitopatógenos e como promotoras de crescimento nas plantas (Júnior et al., 2013), são eles; *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *actinomicetos* spp., *Streptomyces* spp., *Aspergillus* spp., *Catenaria* spp., *Gliocladium* spp., *Hyphochytrium* spp., *Myrothecium* spp., *Penicillium* spp. e *Trichoderma* spp. (Erwin e Ribeiro, 1996).

Dentre os gêneros de rizobactérias mais estudadas, estão as *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp. e *Streptomyces* spp. (Silva et al., 2008), algumas bactérias desses gêneros são utilizadas na agricultura por manifestarem ação direta, através da produção de antibióticos antifúngicos e por competirem por substratos com outros organismos (Júnior et al., 2013) e ação indireta como ferramenta na indução de resistência, por induzirem resistência sistêmica induzida (Pieterse et al., 2014).

O gênero *Bacillus* spp., apresenta um diferencial em relação a outros gêneros de bactérias, devido à facilidade em sua utilização e resistência em solo, como também em armazenamento. Possui elevado potencial de inoculação em diversas

culturas (Petras e Casida, 1985), tal fato favorece a utilização de algumas bactérias desse gênero para o uso comercial no controle de doenças de plantas.

No mercado há vários produtos disponíveis comercialmente que utilizam *Bacillus* spp. para o controle de diversos fitopatógenos: *B. subtilis* (Kodiak®, Serenade®), *B. pumilus* (YieldShield®), *B. liqueniformis* (EcoGuard®) e *B. subtilis* + *B. amyloliquefaciens* (BioYield®). Dentre essas rizobactérias, *B. subtilis* se destaca pela eficiência na prevenção e controle de moléstias, sua ação inibe a germinação de esporos, tubo germinativo e micélio dos fitopatógenos, além de favorecer a indução de resistência em plantas (Bettiol e Morandi, 2009). Os mesmos autores ainda relatam o potencial de uso dessa bactéria, nas culturas de alface, arroz, café, citros, crucíferas, cucurbitáceas, feijão, soja e trigo.

### **2.3.3. Ecolife®: indutor abiótico de resistência**

Uma forma de controle de doenças de plantas que tem despertado o interesse de alguns pesquisadores, é baseada na utilização de produtos naturais como extratos de plantas e seus subprodutos. Os mesmos possuem substâncias bioativas, que podem atuar como indutores de resistência em plantas (Amaral, 2008). A utilização de extratos vegetais tem sido usada no controle de diversos fitopatógenos, por manifestarem ação direta inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, ou agindo indiretamente induzindo a síntese de fitoalexinas (Amaral, 2008; Carvalho, 2010).

O Ecolife® foi desenvolvido comercialmente como indutor foliar, mas tem sido utilizado em alguns trabalhos no controle de fungos e microrganismos patogênicos em plantas. Proveniente da biomassa cítrica, o produto tem formulação aquosa heterogênea contendo polifenóis, flavonoides, fitoalexinas e ácidos orgânicos diluídos (Cavalcanti et al., 2006). No qual, apresenta ação sinérgica entre seus componentes, regula o vigor vegetativo, além de ser utilizado como ativador de resistência a doenças causadas por bactérias e fungos (Furtado et al., 2010). Pode ser aplicado alternadamente com outros produtos, é atóxico, não corrosivo, não volátil e tem uso na pré, como também na pós-colheita sem período de carência (Dantas et al., 2004).

Investigando a influência de dois elicitores (Ecolife® e Acibenzolar-S-metílico) em tomateiro inoculadas com *Xanthomonas vesicatoria*, Cavalcanti et al. (2006),

verificaram que após quatro dias das pulverizações com Ecolife, houve redução do crescimento da mancha bacteriana, em resposta à ativação de peroxidases e oxidases de polifenóis.

O efeito de Ecolife, também foi analisado na redução de doenças fúngicas em frutos de abacaxizeiro. Oliveira e Nascimento (2009), aplicaram o produto 24 horas antes da inoculação de *Chalara Paradoxa* (De Seynes) Sacc. e observaram que o produto manifestou diminuição da severidade da doença e aumentou a vida útil dos frutos.

#### **2.4. Custos na indução de resistência**

A utilização de indutores de resistência nem sempre representam benefícios para as plantas, devido à grande energia que é destinada para defesa contra patógenos. Segundo Gayler et al. (2004) a alocação de recursos internos na planta para o desenvolvimento vegetativo ou defesa, é determinada pela competição por substratos comuns e energia, muitas vezes a destinação de recursos energéticos é ativada na ausência do patógeno o que ocasiona em custos para as plantas (Dietrich et al., 2005).

Os custos são definidos como todos os efeitos negativos na aptidão da planta, no qual resultam da expressão de uma característica de defesa quando a planta cresce sob condições evolutivamente relevantes. Considerando-se alocação, autotoxicidade, como também custos ecológicos, que fazem parte dos processos internos (Heil e Baldwin, 2002). Esses custos podem ser metabólicos e refletem diretamente na produtividade (Iriti e Faoro 2003).

Não se pode mensurar os custos totais das defesas induzidas (Purrington, 2002), mas sabe-se que alguns trabalhos têm demonstrado os efeitos desses custos na produtividade e no metabolismo das plantas, com a aplicação de alguns indutores de resistência. Kunh e Pascholati (2010), ao avaliar os custos adaptativos em feijoeiro antes da chegada do patógeno, relataram que alguns indutores influenciaram de maneiras distintas nas plantas. O ASM aumentou a síntese de lignina, diminuiu teor de fenóis e reduziu a biomassa da planta, enquanto que nas plantas tratadas com *B. cereus* não ocorreu os mesmos resultados. Tian et al. (2003), relataram a redução na

produção de sementes devido à expressão de uma resistência específica mediada pelo gene R a patógenos em *Arabidopsis*.

Heil et al. (2000), avaliaram os custos adaptativos envolvidos na indução de resistência em trigo e constataram que as plantas tratadas com ASM produziram menor biomassa em relação às plantas controle, apresentando menores perfilhos, espigas e números de sementes. Esses custos, podem estar relacionados com a competição metabólica entre processos envolvidos no desenvolvimento vegetativo da planta, além de síntese de compostos associados à defesa.

## **2.5. Enzimas envolvidas na indução de resistência**

### **2.5.1. Peroxidases**

As peroxidases são enzimas responsáveis por catalisar a oxirredução entre o peróxido de hidrogênio e vários redutores, são encontradas em tecidos de animais, plantas e microrganismos, sendo divididas em três superfamílias: Peroxidase animal, Catalase e Peroxidase de plantas. As enzimas da superfamília das peroxidases vegetais dividem-se em três classes; Classe I inclui as enzimas intracelulares em plantas, bactérias e leveduras (citocromo *c* peroxidase, catalase-peroxidase e ascorbato peroxidase). Classe II são peroxidases dependentes de lignina e manganês, encontram-se extracelularmente em fungos. Classe III são enzimas vegetais secretadas fora das células ou transportadas para os vacúolos (Hiraga et al., 2001).

Em plantas, essas enzimas manifestam relação com a síntese de lignina e suberina, catabolismos de hormônios como a auxina envolvidos na diferenciação e divisão celular, além da cicatrização de feridas ocasionadas por fatores bióticos e abióticos. As isoenzimas de peroxidases possuem afinidade por diferentes substratos podendo atuar também na oxidação de compostos fenólicos que se acumulam após a infecção por patógenos e na oxidação do ácido indolil – 3 – acético (AIA), além de participarem da biossíntese do hormônio vegetal etileno a partir do ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (Lagrimini et al., 1987; Hiraga et al., 2001; Campos e Silveira, 2003).

O incremento da atividade dessas enzimas após uma infecção ou ferimento ocasionado por um patógeno, sugere que as peroxidases têm relação direta no sistema de autodefesa (Hiraga et al., 2001), sendo assim Van Loon e Van Strien (1999), as definiram como proteínas relacionadas à patogênese-PR, da família PR-9.

Estudos direcionados à dinâmica da indução de genes de peroxidases entre as interações planta-patógeno tem indicado que os genes são induzidos mais rapidamente e a um alto nível nas interações com plantas resistentes do que em interações em plantas suscetíveis, muitos desses genes codificam produtos que se acredita participarem da inibição do desenvolvimento de patógenos (Thordal-Christensen et al., 1992; Chittoor et al., 1997).

### **2.5.2. Polifenoloxidasas**

As polifenoloxidasas são um grupo de enzimas amplamente distribuídas no reino vegetal, mas podem ser encontradas em bactérias, fungos e algas (Mayer e Harel, 1979). Em plantas estão presentes no plastídio como também dispersas no citoplasma em tecidos degenerados ou senescentes, tais como frutas maduras (Vaughn e Duke, 1984).

A importância da atividade das polifenoloxidasas na resistência a doenças em plantas, está principalmente relacionada à hidroxilação de monofenóis para o-difenóis e oxidação destes o-difenóis para quinonas ou polímeros, as quinonas são mais tóxicas que os fenóis tendo características antimicrobianas, enquanto os polímeros atuam como barreira física para os patógenos (Campos e Silveira, 2003). As polifenoloxidasas atuam sobre vários substratos como p-cresol, tirosina e ácido p-cumárico como substratos monofenólicos, enquanto catecol, diidroxifenilalanina e ácido clorogênico substratos difenólicos (Gomes et al., 2001).

A atividade da polifenoloxidase fica latente na planta até que a enzima seja liberada do tilacoide por meio da ruptura das células através da ação de patógenos e insetos que causam ferimentos e infecção (Thipyapong et al., 2004). Segundo Agrios (2005), o aumento da atividade dessas enzimas resulta em altas concentrações de compostos tóxicos contribuindo para maior proteção.

Além disso, essas enzimas também podem manifestar um sinal sistêmico que ativa um espectro de proteínas induzidas relacionadas à defesa em plantas em resposta a ataques de pragas e patógenos (Constabel et al., 1995).

### **2.5.3. Fenilalanina amônia-liase**

A fenilalanina amônia-liase PAL está presente principalmente em plantas superiores não sendo encontrada em animais. Estão localizadas dispersas no citoplasma ou em organelas membranosas, é uma enzima que se ramifica entre o metabolismo primário (Via do shiquimato) e metabolismo secundário dos vegetais (Jones, 1984; Dixon e Paiva, 1995), sendo nesse último chave na rota dos fenilpropanóides cuja função é catalisar a eliminação não oxidativa da amônia de L-fenilalanina para ácido *trans*-cinâmico, que é o primeiro produto formado nessa rota (Ritter; Schulz, 2004).

O ácido *trans*-cinâmico é o precursor na síntese de vários compostos que atuam no metabolismo das plantas como a lignina (suporte mecânico), fitoalexinas (estresses bióticos), substâncias antioxidantes (estresses abióticos), compostos que absorvem UV (antocianinas) e moléculas sinalizadoras (flavonoides) que são fatores de nodulação em plantas (Jones, 1984; Dixon e Paiva, 1995; Ritter; Schulz, 2004).

Além disso possui relação no desenvolvimento vegetal e na sinalização de estresses nas plantas, que podem ter sua biossíntese estimulada no ataque de patógenos, lesão tecidual, irradiação UV, baixa temperatura ou baixos níveis de nitrogênio, fosfato e ferro (Dixon e Paiva, 1995).

### **2.5.4. $\beta$ -1,3-glucanases**

As  $\beta$ -1,3-glucanases estão presentes nas plantas, bactérias, fungos, algas e alguns invertebrados (Cutt e Klessig, 1992; Markovich e Kononova, 2003; Kuhn, 2007). Pertencem à família PR-2 e são agrupadas em três classes que diferem estruturalmente; Classe I são proteínas básicas e estão localizadas no vacúolo da célula vegetal e células da epiderme. Classes II e III, incluem principalmente as proteínas ácidas extracelulares (Selitrennikoff, 2001).

Essas enzimas manifestam ação antifúngica, através da ação catalítica na hidrólise de polímeros de  $\beta$ -1,3-glucana, um dos principais componentes da parede celular dos fungos (Cornelissen e Melchers, 1993). A maioria dessas enzimas possui atividade de endoglucanase, cujo produto da reação são oligômeros de duas a seis unidades de glicose pela hidrólise do substrato  $\beta$ -1,3-glucana, como exemplo a laminarina (Bol; Linthorst; Cornelissen, 1990).

A  $\beta$ -1,3-glucana é um dos maiores componentes da parede celular de muitos fungos, sendo assim as  $\beta$ -1,3-glucanases têm a capacidade de degradação, liberando oligossacarídeos, com atividade elicitora dos sistemas de defesa da planta (Darvil e Albersheim, 1984). Essas enzimas atuam em conjunto com as quitinases inibindo o crescimento fúngico. Além de promover a liberação de fragmentos glicosídicos, presentes na parede celular do patógeno, como também da própria planta, que podem atuar como elicitores de reações de defesa (Cutt e Klessig, 1992; Leubner-Metzger e Meins, 1999).

Durante a indução de resistência, a  $\beta$ -1,3-glucanases é sintetizada e excretada para a lamela média e com o crescimento fúngico neste espaço, esta enzima começa a degradar o tecido da parede celular do fungo, e os fragmentos liberados pela ação da enzima funcionam como exoelicitores, induzindo a síntese de quitinases e  $\beta$ -1,3-glucanases que são acumuladas nos vacúolos. No momento em que o fungo penetra na célula, os vacúolos são rompidos e ocorre a liberação de grande quantidade destas enzimas reprimindo a ação do patógeno (Mauch e Staehelin, 1989).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Condução do experimento

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação e nos laboratórios de Fitopatologia e Microbiologia da Universidade do Estado de Mato Grosso, campus universitário Eugênio Carlos Stieler, localizado em Tangará da Serra – MT, com localização sob as coordenadas geográficas: latitude 14°39' S; longitude 57°25' W, a 440 metros de altitude. O clima da região apresenta elevadas temperaturas e chuvas no verão e inverno seco, com pluviosidade média anual de 1.404 mm e temperatura média anual do ar 24,6 °C (Dallacort et al., 2011).

A umidade, precipitação e temperatura foram monitoradas de fevereiro a maio de 2020, período de execução do experimento (Apêndice B). Os dados foram fornecidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia-INMET.

Foram utilizadas mudas do tipo filhote (15 a 45 cm de altura) das cultivares Pérola e BRS Imperial, obtidas do banco ativo de germoplasma da Unemat em Tangará da Serra, na qual foram plantadas em vasos com capacidade de 3,5 litros de substrato, formulado com areia e terra na proporção de 1:1. A irrigação foi realizada manualmente conforme as necessidades das plantas.

#### 3.2. Delineamentos experimental

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados (DBC) em arranjo fatorial 7x2 (indutores de resistência x cultivares). Os indutores de resistência foram: acibenzolar-S-metílico (ASM) na dose de 0,4g de produto comercial L<sup>-1</sup>; *B. subtilis* (linhagem QST 713) na dose de 1 mL de produto L<sup>-1</sup> (13,68x10<sup>6</sup> UFC L<sup>-1</sup>); Biomassa cítrica (Ecolife®) na dose de 2 mL L<sup>-1</sup>; ASM 0,4g L<sup>-1</sup> + *B. subtilis* 1 mL L<sup>-1</sup> + B. cítrica 2 mL + *B. subtilis* 1 mL<sup>-1</sup>. Foram utilizadas doses indicadas para outras culturas, haja vista que não há indicação de dose para a cultura do abacaxizeiro.

Também foram utilizadas a testemunha inoculada, referente às plantas que foram inoculadas com *F. guttiforme* e que não receberam aplicação dos indutores, além da testemunha absoluta sem aplicação de fungo e indutor. Foram utilizadas as cultivares Pérola (suscetível a fusariose) e BRS Imperial (resistente). O experimento

foi constituído de três repetições, parcela com cinco plantas, nas quais as mesmas plantas foram utilizadas para análise enzimática, análise da severidade da doença e incidência do patógeno (expressa em porcentagem). Para a análise da massa seca, utilizou-se duas plantas de cada cultivar por repetição.

### 3.3. Avaliação da severidade da doença

O isolado de *F. guttiforme* foi obtido da coleção micológica do Laboratório de Fitopatologia/CPEDA. A suspensão foi obtida pela adição de 30 mL de água destilada esterilizada em placas de Petri contendo colônias puras cultivadas em meio BDA e raspagem com auxílio da alça de Drigalsk.

A suspensão foi ajustada para a concentração de  $1,6 \times 10^5$  conídios/mL<sup>-1</sup> em hemacitômetro tipo Neubauer (Matos, 1978). Após 24 horas da primeira aplicação dos indutores, foi inoculado o patógeno *F. guttiforme* para avaliação da atividade enzimática e da severidade da doença. Realizou-se a inoculação através de ferimentos com agulhas de seringas descartáveis e borrifamento da suspensão de conídios até o ponto de escorrimento na base das folhas D e aleatórias, como também em torno da planta (Adaptado de Coutinho, 2010).

A severidade da doença foi avaliada com base em sintomas observados na parte aérea (folhas), quinzenalmente após a inoculação do patógeno até a sexta avaliação. Utilizou-se a escala de notas adaptada de Santos et al. (2002), variando de 1 a 5, em que 1 = ausência de sintomas; 2 = clorose no ferimento; 3 = gomose no ferimento; 4 = gomose em outras partes da planta, 5 = plantas mortas. Ao final das avaliações os dados foram ponderados para a área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS), segundo Campbell e Madden (1990) calculados pela fórmula:

$$AACPS = \sum \left[ \left( \frac{y_1 + y_2}{2} \right) (t_2 - t_1) \right]$$

Nesta fórmula o  $y_1$  e  $y_2$  representam duas avaliações consecutivas realizadas nos tempos  $t_1$  e  $t_2$ , respectivamente (Shaner e Finney, 1977).

### **3.4. Teste de presença (TP) de *Fusarium guttiforme***

Para determinar a TP, fragmentos de aproximadamente três centímetros, das folhas de todas as plantas das parcelas, foram seccionados, longitudinalmente e desinfestados com álcool 70% e hipoclorito de sódio 2%, por dois minutos, enxaguados três vezes em água destilada esterilizada e colocados em placas de Petri de 15 cm de diâmetro forradas com duas toalhas de papel filtro umedecido em água destilada e autoclavada. Foram acondicionados 15 cortes do material vegetal por placa, incubados em sala de crescimento à 25° C com fotoperíodo de 12 horas claro/escuro, por sete dias.

Ao final do período de incubação em microscópio estereoscópico, realizou-se a avaliação, na qual foi possível verificar a presença de *F. guttiforme* nas amostras referentes às plantas inoculadas com o patógeno. Pela ocorrência do fungo nas amostras avaliadas, a incidência foi calculada e o valor foi dado em porcentagem.

### **3.5. Avaliação das características vegetativas**

Decorrido trinta dias do plantio, iniciaram as aplicações dos indutores (ASM, *B. subtilis*, *B. cítrica*, ASM + *B. subtilis* e *B. cítrica* + *B. subtilis*) no período de sete horas da manhã, com intervalos de 15 dias até a quarta aplicação. Após quinze dias da primeira aplicação dos indutores, iniciaram-se as avaliações dos componentes de produção: altura de planta, medida do solo até a folha mais alta na posição natural. Mediu-se a largura da folha D, e o comprimento a partir de sua inserção no talo até a ponta da folha. Essas características foram mensuradas com auxílio de uma régua e os resultados foram expressos em centímetros. Contaram-se também, o número de folhas verdes e/ou ativas da planta.

As avaliações foram realizadas quinzenalmente após a inoculação do fungo, totalizando cinco avaliações. Determinou-se também a massa seca da parte aérea e de raiz ao fim do experimento aos 90 dias após a inoculação do fungo. As plantas foram acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa de ventilação forçada a 70 °C. Após adquirirem peso constante, efetuou-se a pesagem, em gramas, utilizando-se balança de precisão (0,01g).

### 3.6. Análises enzimáticas

Para as análises enzimática, coletou-se uma folha D (folha mais jovem entre as adultas e a mais ativa fisiologicamente entre todas as folhas) (Py et al., 1984; Chan e Lee, 2000) de cada planta por repetição às 24, 48, 72, 96 e 120 horas da inoculação do fungo na planta, as mesmas foram envolvidas por papel alumínio e mergulhadas em nitrogênio líquido, posteriormente armazenadas em deep freezer - 80°C até a realização das análises bioquímicas.

#### 3.6.1. Determinações da atividade de Polifenoloxidase e Peroxidase

Para obtenção do extrato enzimático das amostras, 0,2 g das folhas foram maceradas em almofariz com nitrogênio líquido, 2 mL de tampão acetato de sódio (0,1 M, pH 5), 1 mL de EDTA (0,001M) e com 1 % (v/v) de polivinilpirrolidona (PVP). Realizou-se a centrifugação dos extratos à 10.000 g por 10 minutos, em seguida, o sobrenadante foi transferido para microtubos de 2 mL (adaptado de Melo et al., 2016).

Para determinar a atividade de polifenoloxidase (PPO) foi adicionado em tubo de ensaio 100µl de extrato enzimático a 2,9 mL de solução contendo catecol (0,02M) solubilizado em tampão fosfato de potássio (0,1M; pH = 6,5). Definiu-se a atividade enzimática específica através da variação de absorbância em 410 nm produzida em meio reacional, por tempo em minutos e por miligrama de proteína ( $\Delta \text{Abs. min.}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ ) (adaptado de Hyodo e Yang, 1971).

Através da absorbância proporcionada pela ação do guaiacol em presença de peróxido de hidrogênio, foi possível estimar a atividade da peroxidase (POX), definida como a variação de absorbância em 470 nm produzida em meio reacional, por tempo em minutos e por miligrama de proteína ( $\Delta \text{Abs. min.}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ ). Em tubos de ensaio foram adicionados, 200 µL de guaiacol (0,02 M), 0,5 mL de peróxido de hidrogênio (0,38 M), 2,0 mL de tampão fosfato de potássio (0,2 M/pH 5,8) e 150 µL do extrato enzimático para o desenvolvimento da reação. A mistura foi levemente agitada para uma boa homogeneização, adicionando-a em cubeta espectrofotométrica e realizando as leituras em espectrofotômetro no comprimento de onda de 470 nm, por um período de 30 segundos (adaptado de Dann e Deverall, 2000).

### 3.6.2. Determinação da atividade de $\beta$ -1,3-glucanase

O extrato enzimático para a dosagem de  $\beta$ -1,3-glucanase foi preparado pela homogeneização de 0,4 g de amostras de tecido vegetal com 2 mL de tampão acetato de sódio (50 mM, pH 5,0), centrifugado a 6730 g por 30 minutos. A determinação de  $\beta$ -1,3-glucanase foi realizada pela dosagem da glicose liberada com a hidrólise da laminarina. Para isto, pipetou-se, para tubos de ensaio, 250  $\mu$ L do extrato enzimático, acrescentando 250  $\mu$ L de laminarina a 2% (p/v) incubando por 60 minutos em banho maria a 37 °C. Adicionou-se 500  $\mu$ L de 3,5-dinitrosalicilato, paralisando a reação por meio do aquecimento da mistura por 5 minutos em banho de água fervente e resfriando em banho de gelo até chegar em temperatura ambiente (adaptado de Qin et al., 2003). A quantidade de açúcares redutores formados foi quantificada pela curva padrão de concentrações de glicose ( $Y=1,0615x - 0,0432$ ), onde Y é a absorbância a 540 nm e x a concentração de açúcares redutores ( $\mu$ mol) e os resultados expressos em  $\mu$ mol de glicose.min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína (Apêndice D).

### 3.6.3. Determinação da atividade de Fenilalanina amônia-liase

Utilizou-se no preparo do extrato para a determinação da fenilalanina amônia-liase (PAL) 1,0 g de folhas que foram homogeneizados em 2 mL de tampão de extração acetato a 0,1M, pH 5,0 e a suspensão resultante centrifugada por 15 minutos a 10.351 g, coletando-se o sobrenadante. Para a determinação da atividade da PAL 250  $\mu$ L do sobrenadante foi transferido para tubos de ensaio e alíquotas de 750  $\mu$ L de solução tampão TRIS-EDTA 0,01M, pH 8,8, e 250  $\mu$ L de solução de fenilalanina (30  $\mu$ M) e adicionou-se 250  $\mu$ L de água destilada. Após a incubação em banho-maria a 40 °C, por 60 minutos, a reação foi paralisada com 1 mL de ácido clorídrico 5M e as leituras espectrofotométricas realizadas a 290 nm 25°C, seguindo o protocolo adaptado de Souza (2016). A atividade foi estimada pela curva padrão ( $Y=98,3x - 0,0039$ ), onde Y é a absorbância a 290 nm e x a concentração de ácido cinâmico (mg) e os resultados expressos em mg de ácido cinâmico.min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína (Apêndice C).

### 3.6.4. Proteínas totais

O teor de proteínas totais foi determinado através do método colorimétrico de Bradford (1976). Para a determinação da proteína total foram pipetados em tubos de ensaio 200 µL do extrato enzimático e 2 mL da solução de “Coomassie Brilhante Blue” (CBB), agitados suavemente e deixado em repouso por 15 minutos e posteriormente foi realizada a leitura espectrofotométrica no comprimento de onda de 595 nm. A curva-padrão utilizada foi por meio da equação:  $y = 15,05x + 0,0003$  ( $R^2 = 0,9919$ ) e os resultados de proteína total expressos em miligramas por mL.

### 3.7. Análise dos dados

Os valores da severidade da doença, AACPS, incidência, características vegetativas e massa seca, foram submetidos à análise de variância pelo teste F no programa Sisvar e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade (Ferreira, 2014).

Os valores de absorbância da análise enzimática foram dispostos em triplicata, calculando-se a média dos dados, por cultivar em cada tratamento. O desvio padrão foi inferido usando-se o Excel 2013, com as médias obtidas. A fórmula de desvio padrão utilizada foi:

$$DP = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{(n-1)}}$$

Nessa fórmula o x representa a média da amostra e o n representa o tamanho da amostra.

#### 4. RESULTADOS

Com relação aos caracteres vegetativos (Apêndice A), verificou-se significância ( $p < 0,05$ ) para indutor, em relação à matéria seca das raízes (MSR). Houve efeito significativo ( $p < 0,01$ ) para cultivar nas variáveis; altura de planta na quinta avaliação (AP5) e para MSR. Na interação indutor x cultivar, houve significância de ( $p < 0,05$ ) na altura de planta na primeira avaliação (AP1) e para comprimento de folha, largura de folha na primeira e quinta avaliação, além de massa seca da parte aérea (MSA), os demais não diferiram estatisticamente.

A nível de indutor para variável MSR, observou-se que as plantas tratadas com *B. subtilis*, Biomassa cítrica e Biomassa cítrica + *B. subtilis* não diferiram das testemunhas, diferente das plantas tratadas com ASM e ASM + *B. subtilis* que manifestaram menor MSR (Tabela 1).

**Tabela 1.** Influência dos indutores de resistência no acúmulo de massa seca da raiz em genótipos de abacaxizeiro.

Indutor	MSR
T. Absoluta	33,53a
T. Inoculada	29,73a
ASM	21,44b
<i>B. subtilis</i>	31,61a
Biomassa cítrica	36,19a
ASM + <i>B. subtilis</i>	23,31b
Biomassa cítrica + <i>B. subtilis</i>	35,11a

Médias com mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a ( $p \leq 0,05$ ).

Analisando os genótipos, verificou-se que a cv. Pérola, manifestou maior crescimento, acúmulo de massa seca das raízes em relação à cv. BRS Imperial (Tabela 2). Vale ressaltar, que as mudas da cv. BRS Imperial apresentaram menor tamanho na hora do plantio, por isso esses resultados.

**Tabela 2.** Médias para as características altura de planta quinta avaliação (AP5), massa seca da raiz (MSR) em cultivares de abacaxizeiro.

<b>Cultivar</b>	<b>AP5</b>	<b>MSR</b>
Pérola	44,26 a	33,18 a
BRS Imperial	19,75 b	27,48 b

Médias com mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a ( $p \leq 0,05$ ).

Na interação indutor x cultivar, os indutores (*B. subtilis*, ASM + *B. subtilis* e Biomassa cítrica + *B. subtilis*), proporcionaram maior crescimento nas plantas da cv. Pérola nas variáveis, AP1, CF1, CF5 e LF1, os demais não diferiram das testemunhas para nenhuma variável, não foi possível observar diferenças entre os tratamentos para LF5. Para massa seca da parte aérea todos os indutores proporcionaram resultados superiores à testemunha (Tabela 3).

Na cultivar BRS Imperial, nenhum dos tratamentos (ASM, *B. subtilis*, Biomassa cítrica, ASM + *B. subtilis* e Biomassa cítrica + *B. subtilis*) diferiram da testemunha absoluta sem aplicação para todas as variáveis. Entre os genótipos, a cultivar pérola manifestou maior desenvolvimento vegetativo (Tabela 3).

**Tabela 3.** Caracteres vegetativos e massa seca das cultivares de abacaxizeiro em resposta aos indutores de resistência.

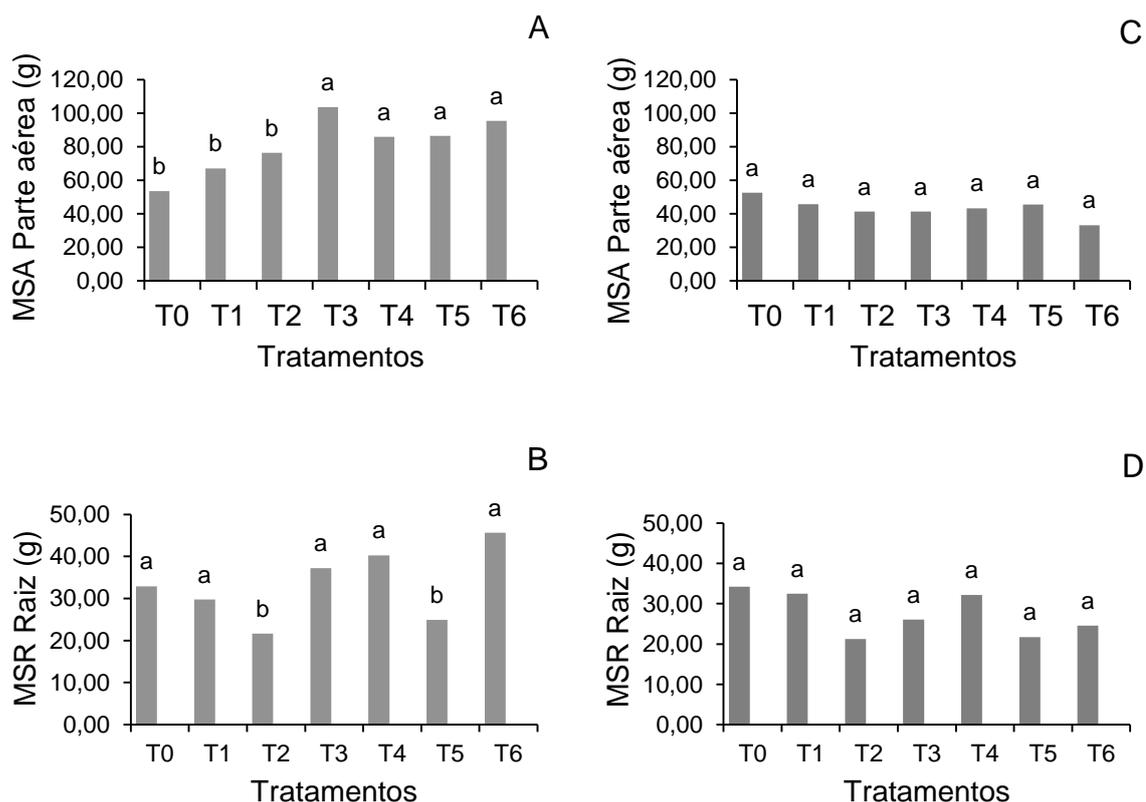
Indutor	AP1		CF1		CF5		LF1		LF5		MSA	
	Cv1	Cv2	Cv1	Cv2	Cv1	Cv2	Cv1	Cv2	Cv1	Cv2	CV1	CV2
T0	32,01bA	19,14aB	29,61bA	20,41aB	32,05bA	21,85aB	2,07bA	1,61aB	2,35aA	1,94aB	53,47bB	52,63aB
T1	33,77bA	20,30aB	29,31bA	20,25aB	33,58bA	21,62aB	2,11bA	1,41aB	2,44aA	1,75aB	67,06bB	45,69aB
T2	33,53bA	19,59aB	29,41bA	19,56aB	32,08bA	22,59aB	2,23bA	1,29aB	2,50aA	1,57aB	76,49bA	41,40aB
T3	42,51aA	16,47aB	38,59aA	17,69aB	41,69aA	20,45aB	2,66aA	1,14aB	2,85aA	1,53aB	103,58aA	41,39aB
T4	35,09bA	18,67aB	30,17bA	18,45aB	34,85bA	20,57aB	2,23bA	1,23aB	2,47aA	1,54aB	85,99aA	43,27aB
T5	40,77aA	17,62aB	37,91aA	17,10aB	42,21aA	18,81aB	2,53aA	1,23aB	2,60aA	1,58aB	86,48aA	45,51aB
T6	42,26aA	16,18aB	36,93aA	15,95aB	41,61aA	17,98aB	2,48aA	1,09aB	2,62aA	1,37aB	95,42aA	33,07aB

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a ( $p \leq 0,05$ ). (Cv1) Cultivar Pérola, (Cv2) Cultivar BRS Imperial, (AP) altura de planta, (CF) comprimento de folha D, (LF) largura de folha D, (MSA) massa seca da parte aérea. (1) Primeira avaliação e (5) quinta avaliação. (T0) Testemunha sem aplicação de indutor e sem inoculação do patógeno, (T1) Testemunha sem aplicação de indutor e com inoculação do patógeno, (T2) ASM, (T3) *B. subtilis*, (T4) Biomassa cítrica, (T5) ASM + *B. subtilis*, (T6) Biomassa cítrica + *B. subtilis*.

#### 4.1. Massa seca

Com relação à massa seca, foi possível verificar resultados distintos entre os dois genótipos analisados. Nas plantas da cv. BRS Imperial não foram visualizadas diferenças entre os tratamentos e as testemunhas para as duas variáveis, diferente dos valores obtidos para as plantas da cv. Pérola que apresentaram diferenças na parte aérea e raiz.

Na parte aérea somente as plantas tratadas com *B. subtilis*, Biomassa cítrica, ASM + *B. subtilis* e Biomassa cítrica + *B. subtilis* manifestaram aumento de massa seca em relação às testemunhas. Para raiz, com exceção das plantas tratadas com ASM e ASM + *B. subtilis* que apresentaram valores inferiores às testemunhas, todos os outros tratamentos não proporcionaram diferenças significativas nas plantas em relação às testemunhas (Figura 1).



**Figura 1.** (g) Massa seca de abacaxizeiro cv. Pérola e BRS Imperial: parte aérea; (A) cv. Pérola, (C) cv. BRS Imperial, raiz; (B) cv. Pérola, (D) cv. BRS Imperial, em resposta à aplicação dos indutores. (T0) Testemunha sem aplicação de indutor e sem inoculação do patógeno, (T1) Testemunha sem aplicação de indutor e com inoculação do patógeno, (T2) ASM, (T3) *B. subtilis*, (T4) Biomassa cítrica, (T5) ASM + *B. subtilis*, (T6) Biomassa cítrica + *B. subtilis*.

## 4.2. Avaliações dos efeitos dos indutores na fusariose

Houve diferença significância ( $p < 0,05$ ) na interação indutor x cultivar para severidade e diferença significativa de ( $p < 0,01$ ) para área abaixo da curva de progresso da severidade da doença (AACPS) e indutor na variável incidência (Tabela 4).

**Tabela 4.** Resumo da análise de variância para as características Severidade e área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS) da fusariose em abacaxizeiro.

FV	GL	Quadrado Médio		
		Severidade	AACPS	Incidência
Bloco	2	0,04	73035,71	495,24
Indutor (I)	6	3,86**	12045099,21**	7619,05**
Cultivar (C)	1	0,95**	5500952,38**	85,71 <sup>ns</sup>
IxC	6	0,15*	911924,60**	952,38 <sup>ns</sup>
Erro	26	0,05	89894,68	413,19
Média Geral	-	0,56	1014,28	31,16
CV (%)	-	41,07	29,56	65,24

<sup>ns</sup>Não significativo, \*\*Significativo a 1% de probabilidade de erro e \*significativo a 5% de probabilidade de erro pelo Teste F.

Observou-se para cv. Pérola que os indutores de resistência Biomassa cítrica e Biomassa cítrica + *B. subtilis* proporcionaram os menores resultados de severidade da fusariose e AACPS, seguido de ASM. Entretanto as plantas tratadas com *B. subtilis* e ASM + *B. subtilis* manifestaram maior índice de severidade da doença (Tabela 5).

Para cv. BRS Imperial os indutores ASM, Biomassa cítrica e Biomassa cítrica + *B. subtilis* proporcionaram os menores resultados, sendo que as plantas tratadas com *B. subtilis* e ASM + *B. subtilis* também manifestaram maior índice de severidade.

Analisando os genótipos, verificou-se que as plantas da cv. BRS Imperial apresentaram menor severidade em relação à cv. Pérola (Tabela 5).

**Tabela 5.** Interação entre indutor e cultivar para a variável severidade e área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS).

Indutor	Severidade		AACPS	
	CV1	CV2	CV1	CV2
T. Absoluta	0,00aA	0,00aA	0,00aA	0,00aA
T. Inoculada	0,00aA	0,00aA	0,00aA	0,00aA
ASM	0,67bB	0,11aA	1316,67bB	166,67aA
<i>B. subtilis</i>	2,11cB	1,33bA	3916,67c	2300,00b
Biomassa cítrica	0,11aA	0,00aA	166,67aA	0,00aA
ASM + <i>B. subtilis</i>	2,00cB	1,44bA	3900,00cB	2100,00bA
Biomassa cítrica + <i>B. subtilis</i>	0,11aA	0,00aA	166,67aA	0,00aA

Médias com mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a ( $p \leq 0,05$ ). (Cv1) Cultivar Pérola, (Cv2) Cultivar BRS Imperial.

A taxa de incidência do patógeno, avaliada em fragmentos das folhas de abacaxizeiro, foram maiores nas plantas submetidas a aplicação dos indutores ASM (83,33%), Biomassa cítrica (93,33%), ASM + *B. subtilis* (100%), que não diferiram da testemunha sem aplicação de indutor e com inoculação do patógeno (TI) (83,33%). Entretanto, em plantas tratadas com *B. subtilis* e Biomassa cítrica + *B. subtilis* a incidência foi menor em relação a TI (26,66% e 43,33% respectivamente) (Tabela 6).

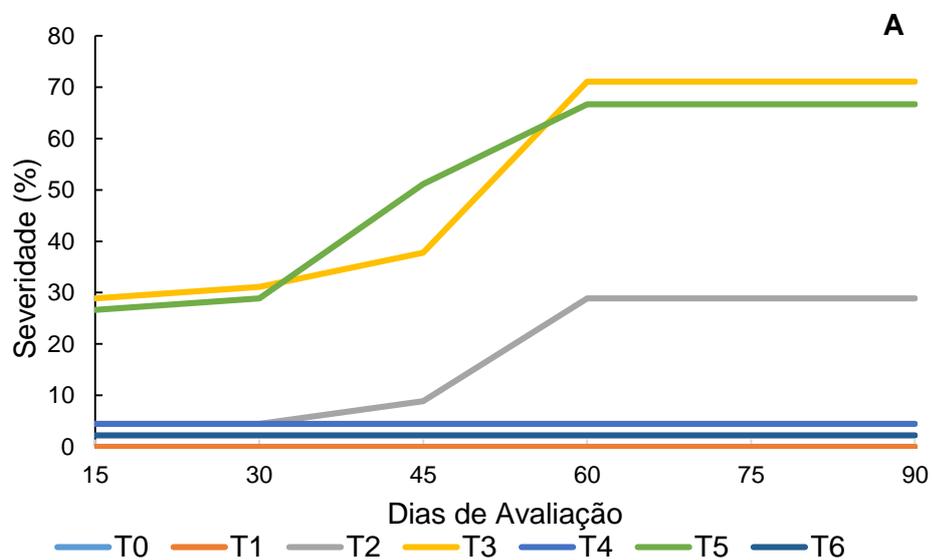
**Tabela 6.** Incidência da fusariose em plantas de abacaxizeiro submetidas à incubação.

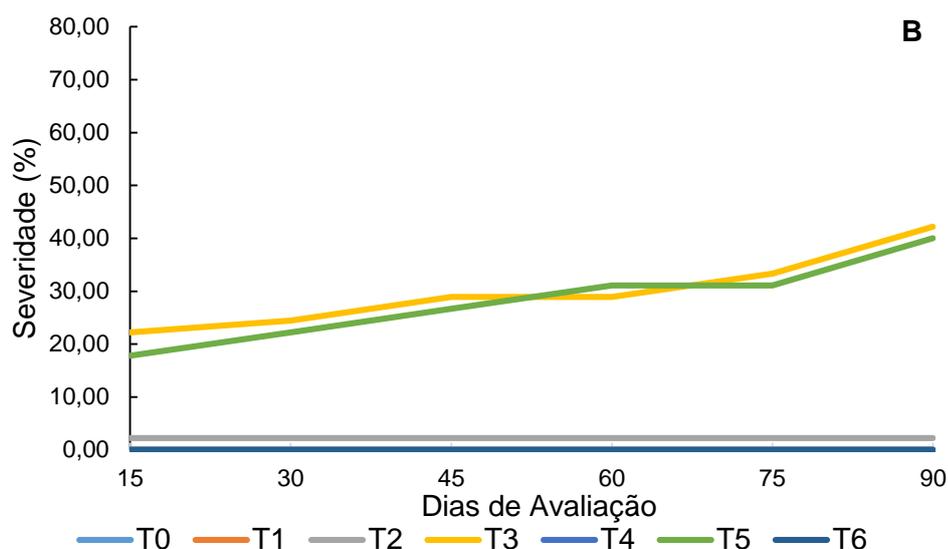
Indutor	Incidência
T. Absoluta	0,00a
T. Inoculada	83,33d
ASM	83,33d
<i>B. subtilis</i>	56,67c
Biomassa cítrica	93,33d
ASM + <i>B. subtilis</i>	100,00d
Biomassa cítrica + <i>B. subtilis</i>	40,00b

Médias com mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a ( $p \leq 0,05$ ).

Ao analisar a curva de progresso da doença (Figura 2), nota-se que em plantas da cv. Pérola que receberam os indutores (Biomassa cítrica, Biomassa cítrica + *B. subtilis* e ASM), manifestaram menor progressão de severidade, durante todo o experimento (Figura 2A). Resultado semelhante à testemunha sem aplicação de indutor e sem inoculação do patógeno, com exceção das plantas tratadas com ASM que apresentaram maior estabilidade somente a partir dos 60 dias de avaliação (DAV). No entanto, *B. subtilis* e ASM + *B. subtilis*, acarretaram os maiores índices da doença desde o início das avaliações, com um crescimento acentuado aos 60 DAV de mais de 30%, chegando a 66% e 71% de severidade respectivamente (Figura 2A).

Para a cultivar BRS imperial, as plantas tratadas com os indutores (ASM, Biomassa cítrica e Biomassa cítrica + *B. subtilis*) manifestaram os menores sintomas durante todas as avaliações, igualando-se à testemunha sem aplicação de indutor e sem inoculação do patógeno (Figura 2B). Porém, nas plantas que receberam a aplicação de *B. subtilis* e ASM + *B. subtilis*, obtiveram maior índice da doença com uma evolução pronunciada dos sintomas aos 75 DAV de 40% e 42% respectivamente.





**Figura 2.** Curva de progresso da severidade da fusariose em abacaxizeiro; (A) cv. Pérola e (B) BRS Imperial, (T0) Testemunha sem aplicação de indutor e sem inoculação do patógeno, (T1) Testemunha sem aplicação de indutor e com inoculação do patógeno, (T2) ASM, (T3) *B. subtilis*, (T4) Biomassa cítrica, (T5) ASM + *B. subtilis*, (T6) Biomassa cítrica + *B. subtilis*.

#### 4.3. Peroxidase (POX)

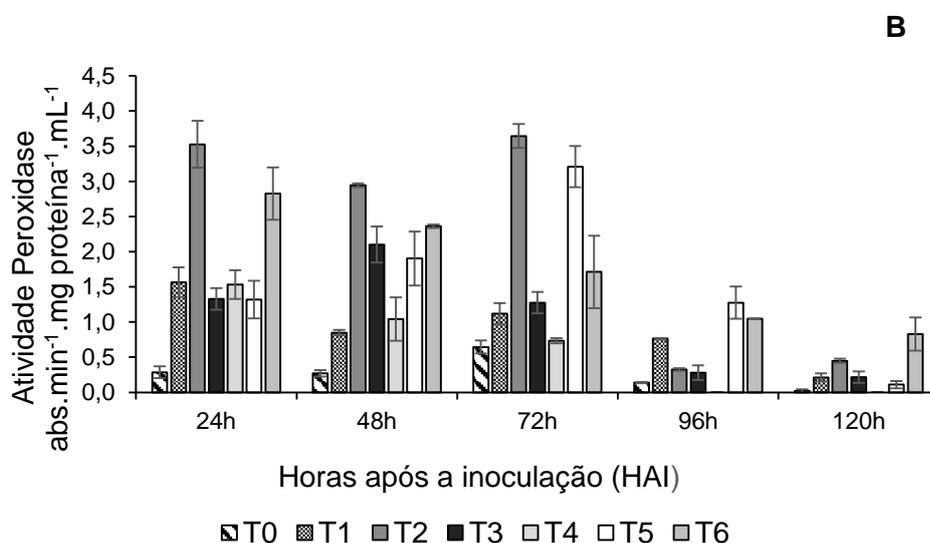
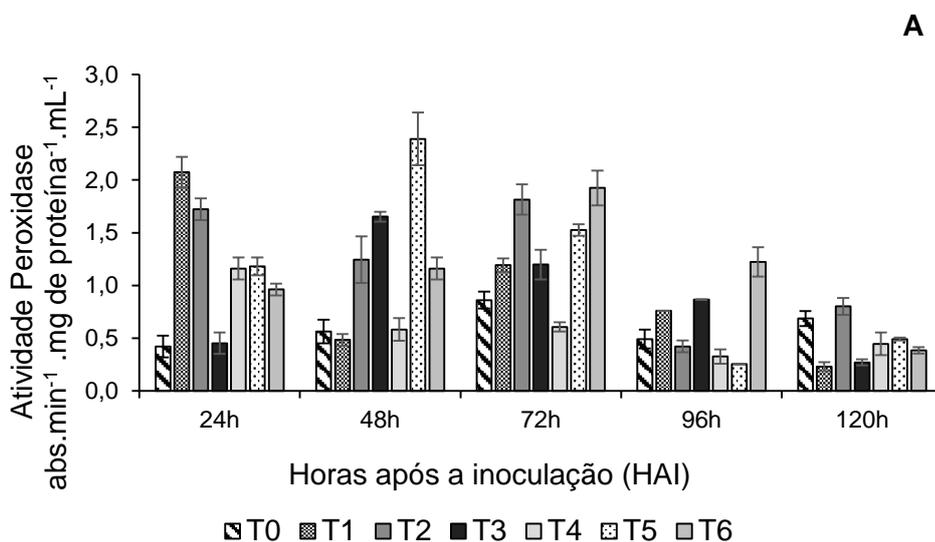
Foi possível verificar que todos os tratamentos proporcionaram incremento na atividade de peroxidase nas duas cultivares analisadas, sendo os maiores picos observados às 24, 48 e 72 horas após inoculação (HAI), com um decréscimo às 96 HAI (Figura 3). Além disso, observa-se que a atividade dessa enzima nas plantas tratadas com ASM foi elevada e permaneceu praticamente estável nesse período apenas com leve decréscimo às 48 HAI nos dois genótipos.

Para cv. Pérola, a testemunha inoculada (TI) obteve uma alta atividade de peroxidase às 24 HAI superior às plantas dos outros tratamentos, seguido de uma diminuição acentuada às 48 HAI igualando-se à testemunha absoluta (TA) (Figura 3A). Vale destacar também, que às 48 HAI, as plantas tratadas com ASM + *B. subtilis* manifestaram o melhor resultado (80% mais ativação que TI) com diminuição da atividade a partir das 72 HAI e atividade praticamente nula às 96 e 120 HAI.

Os tratamentos ASM e Biomassa cítrica + *B. subtilis* proporcionaram as melhores respostas às 72 HAI (34,2% e 37,9% de atividade em relação à TI, respectivamente), porém, houve redução da atividade às 96 HAI, no qual, apenas as plantas tratadas com Biomassa cítrica + *B. subtilis* permaneceram com atividade superior às testemunhas.

Assim como na cv. Pérola às 24 HAI, a atividade de TI na cv. BRS Imperial foi elevada, igualando-se às plantas que receberam aplicação de *B. subtilis*, Biomassa cítrica e ASM + *B. subtilis*, porém, inferior aos tratamentos com ASM (55,5%) e Biomassa cítrica + *B. subtilis* (44,5%). Além disso, a atividade de TI também decaiu nos dias seguintes, porém permaneceu superior a TA (Figura 3B).

Às 48 HAI com exceção das plantas tratadas com Biomassa cítrica todos os outros tratamentos diferiram de TI, sendo que as plantas tratadas com ASM manifestaram o maior incremento enzimático (71,1% de atividade em relação à TI), na qual essa atividade permaneceu elevada até as 72 HAI (69,3%). De forma semelhante, o tratamento com Biomassa cítrica + *B. subtilis* proporcionou atividade superior à TI às 72 HAI (65,1%) e redução da atividade posteriormente.



**Figura 3.** Atividade de peroxidase em folhas de abacaxizeiro na (A) cv. Pérola e (B) BRS Imperial, em resposta à aplicação dos indutores: (T0) Testemunha sem aplicação de indutor e sem inoculação do patógeno, (T1) Testemunha sem aplicação de indutor e com inoculação do patógeno, (T2) ASM, (T3) *B. subtilis*, (T4) Biomassa cítrica, (T5) ASM + *B. subtilis*, (T6) Biomassa cítrica + *B. subtilis*, coletadas com 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a inoculação do fungo (HAI). As barras indicam o desvio padrão para as triplicatas.

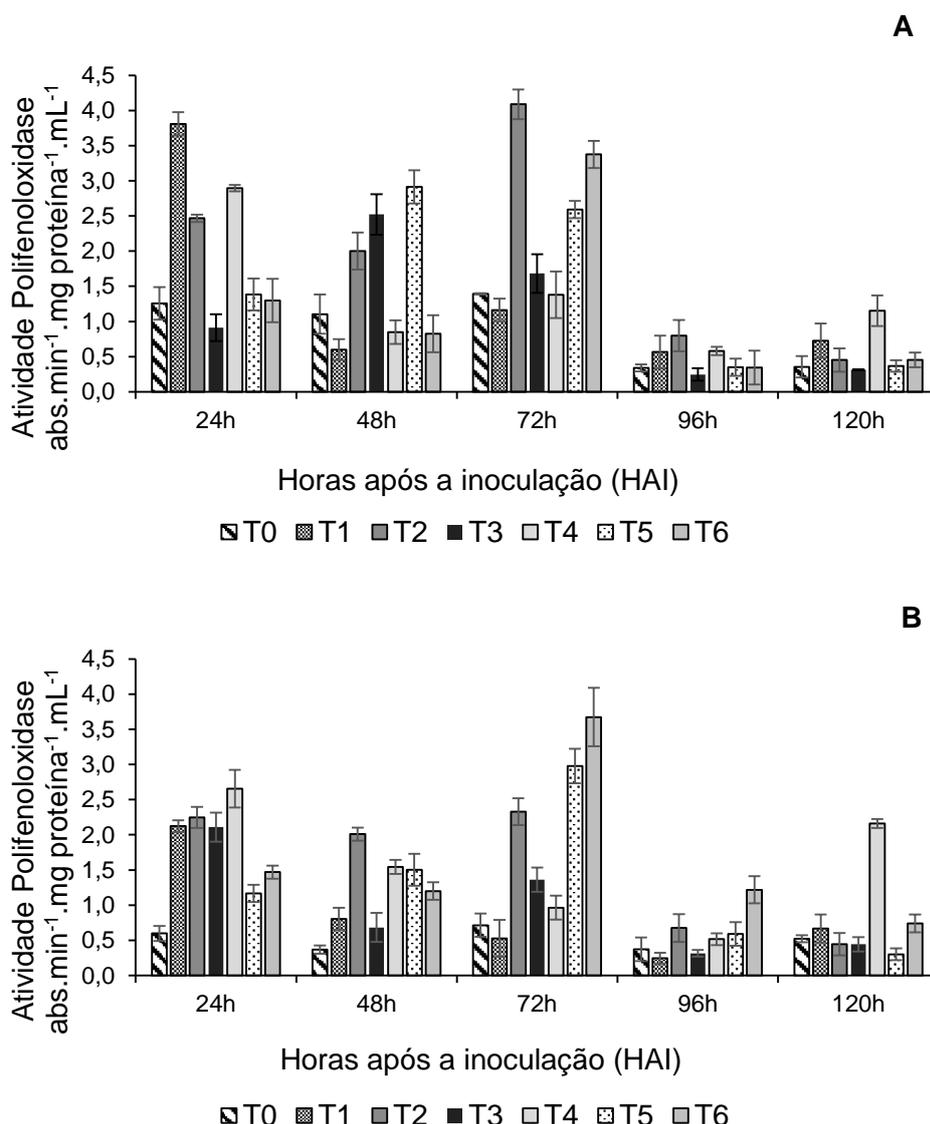
#### 4.4. Polifenoloxidase (POP)

Com relação à polifenoloxidase (POP), foi possível observar comportamento semelhante à peroxidase nos dois genótipos analisados (Figura 4), haja vista que os maiores picos da atividade da enzima, foram visualizados às 24, 48 e 72 HAI, além de haver diminuição da atividade às 96 HAI.

As plantas da cv. Pérola tratadas com o fungo manifestaram o maior incremento enzimático no período de 24 HAI, entretanto sua atividade foi relativamente semelhante ou inferior à TA nos períodos seguintes (Figura 4A). Foi possível observar também, que no período de 48 HAI somente ASM (70,1%), *B. subtilis* (76,3%) e ASM + *B. subtilis* (79,5%) acarretaram em resultados superiores à TI. Às 72 HAI o maior incremento foi observado nas plantas com ASM (71,5%).

Para cv. BRS Imperial, praticamente não houve diferença das plantas tratadas com os indutores às 24 HAI em relação à TI que apresentou uma alta atividade nesse período (Figura 4B). Entretanto às 48 HAI com exceção de *B. subtilis* todos os outros tratamentos diferiram de TI, sendo que o tratamento ASM proporcionou maior incremento (59,9% superior a TI) permanecendo praticamente estável até as 72 HAI (77,44%).

Para as plantas tratadas com ASM + *B. subtilis* e Biomassa cítrica + *B. subtilis*, houve um crescimento acentuado às 72 HAI manifestando as maiores respostas nesse período (82,3% e 85,6% superior a TI respectivamente). Às 120 HAI verificou-se uma reativação nas plantas com Biomassa cítrica, que apresentaram atividade superior a todos os outros tratamentos (69,1% superior a TI).

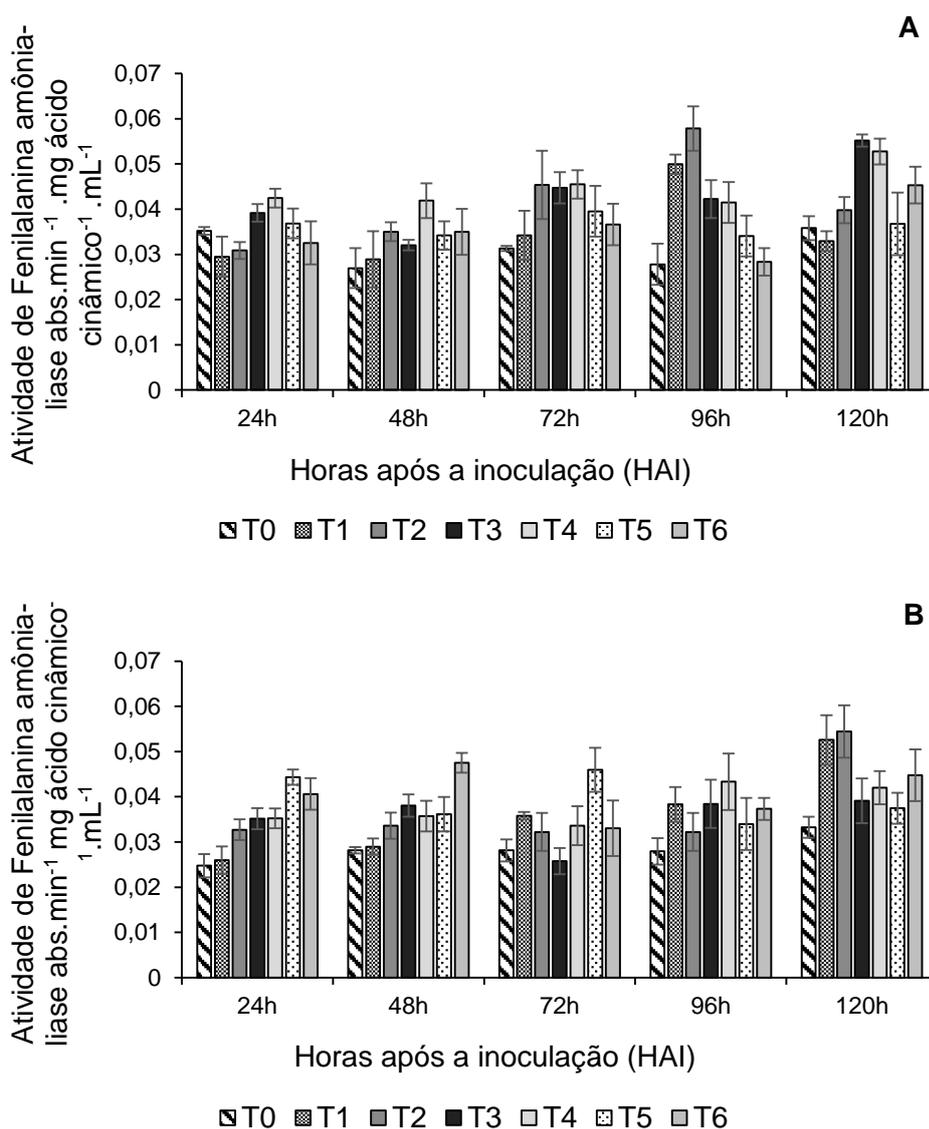


**Figura 4.** Atividade de polifenoloxidase em folhas de Abacaxizeiro, (A) cv. Pérola e (B) BRS Imperial, em resposta à aplicação dos indutores: (T0) Testemunha sem aplicação de indutor e sem inoculação do patógeno, (T1) Testemunha sem aplicação de indutor e com inoculação do patógeno, (T2) ASM, (T3) *B. subtilis*, (T4) Biomassa cítrica, (T5) ASM + *B. subtilis*, (T6) Biomassa cítrica + *B. subtilis*, coletadas com 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a inoculação do fungo (HAI). As barras indicam o desvio padrão para as triplicatas.

#### 4.5. Fenilalanina amônia-liase (PAL)

Os dados demonstram que houve ativação da fenilalanina amônia-liase em ambas as cultivares (Figura 5), na cv. Pérola (Figura 5A), houve incremento da atividade da enzima durante os cinco dias de coleta, apresentando maior pico de ativação às 96 HAI com ASM (15% mais ativação que T1) e 120 HAI *B. subtilis* e

Biomassa cítrica (67,5% e 60,1% mais ativação que TI). Para cv. BRS Imperial só foi possível observar diferença da atividade de PAL em relação à TI, às 24, 48 e 72 HAI (Figura 5B). Todos os indutores proporcionaram atividade semelhante às 24 HAI, entretanto às 48 e 72 os tratamentos Biomassa cítrica + *B. subtilis* (64% mais ativação que TI) e ASM + *B. subtilis* (28,3% mais ativação que TI) respectivamente apresentaram a maior incremento de PAL.

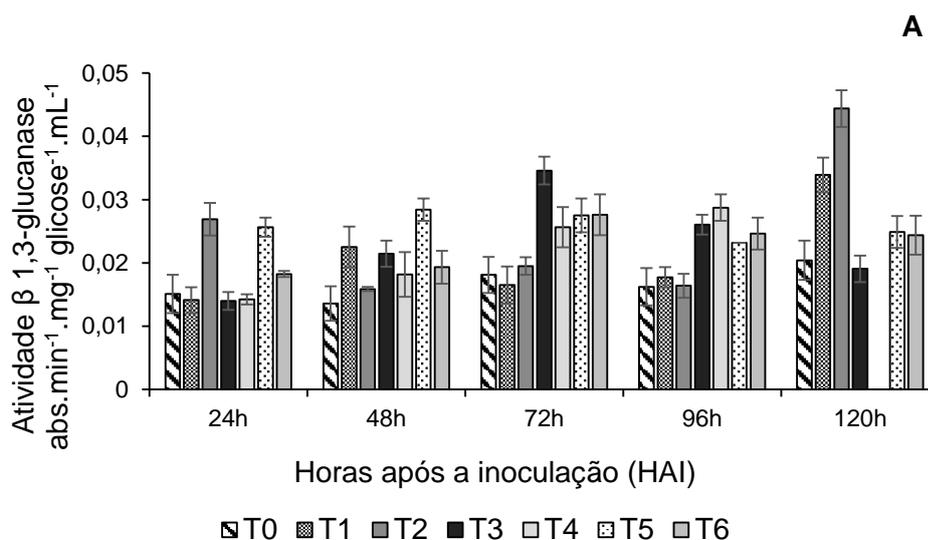


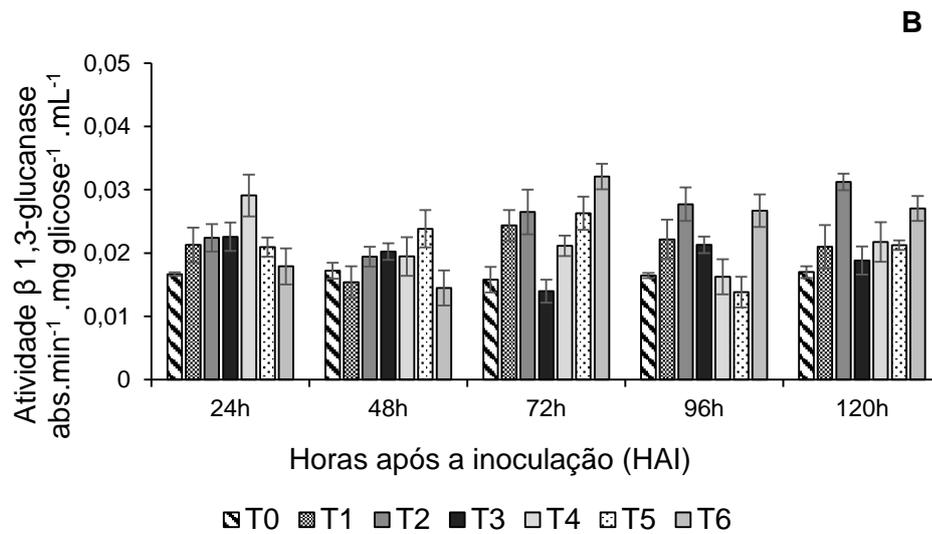
**Figura 5.** Atividade de fenilalanina amônia-liase (PAL) em folhas de abacaxizeiro, (A) cv. Pérola e (B) BRS Imperial, em resposta à aplicação dos indutores: (T0) Testemunha sem aplicação de indutor e sem inoculação do patógeno, (T1) Testemunha sem aplicação de indutor e com inoculação do patógeno, (T2) ASM, (T3) *B. subtilis*, (T4) Biomassa cítrica, (T5) ASM + *B. subtilis*, (T6) Biomassa cítrica + *B. subtilis*, coletadas com 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a inoculação do fungo (HAI). As barras indicam o desvio padrão para as triplicatas.

#### 4.6. $\beta$ -1,3 glucanase (GLU)

Ao analisar a atividade de  $\beta$ -1,3 glucanase, observou-se um comportamento diferenciado entre os indutores, demonstrando que cada elicitor agiu de maneira específica e em diferentes tempos nas cultivares (Figura 6). Para a cv. Pérola (Figura 6A), os maiores picos de atividade enzimática foram observados às 72 HAI com *B. subtilis* (109,4% mais ativação que TI) e às 120 HAI ASM (30,95% mais ativação que TI).

Na cv. BRS Imperial (Figura 5B), a expressão enzimática foi menos pronunciada em relação à cv. Pérola, somente foi possível observar atividade superior à TI às 24 HAI (Biomassa cítrica) 36,7%, 48 HAI (ASM + *B. subtilis*) 54,75%, 72 HAI (Biomassa cítrica + *B. subtilis*) 31,6% e às 120 HAI (ASM e Biomassa cítrica + *B. subtilis*) 48,9%.





**Figura 6.** Atividade de  $\beta$ -1,3-glucanase em folhas de abacaxizeiro, (A) cv. Pérola e (B) BRS Imperial, em resposta à aplicação dos indutores: (T0) Testemunha sem aplicação de indutor e sem inoculação do patógeno, (T1) Testemunha sem aplicação de indutor e com inoculação do patógeno, (T2) ASM, (T3) *B. subtilis*, (T4) Biomassa cítrica, (T5) ASM + *B. subtilis*, (T6) Biomassa cítrica + *B. subtilis*, coletadas com 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a inoculação do fungo (HAI). As barras indicam o desvio padrão para as triplicatas.

## 5. DISCUSSÃO

O aumento do crescimento vegetativo para as variáveis AP, CF e LF, como também o acúmulo de massa seca (parte aérea) em plantas da cv. Pérola tratadas com *B. subtilis* associado com ASM e Biomassa cítrica, pode ser atribuído em grande parte à ação da rizobactéria (Tabela 3). Uma vez, que as suas respostas individuais também proporcionaram efeitos positivos para as características vegetativas nas plantas. Além disso, *B. subtilis* já foi relacionado como estimuladores do crescimento, pela disponibilização de hormônios vegetais e nutrientes para as plantas (Egamberdieva et al., 2017).

Assim como neste presente estudo, a utilização de bactérias diazotróficas endofíticas e epifíticas, resultou em incrementos nas características de crescimento em abacaxizeiro (cv. Vitória) durante a aclimatização (Baldotto et al. 2010). Diante disso, pode-se afirmar que *B. subtilis* apresenta grande potencial também para uso comercial como rizobactéria promotora de crescimento em abacaxizeiro. A comprovação deste fato, aumenta o elenco de efeitos benéficos descritos para este indutor o que credencia o mesmo para avaliações em condições de campo.

Contudo os extratos vegetais também vêm sendo relatados como estimuladores do desenvolvimento vegetal, assim como observado neste presente trabalho no acúmulo de massa seca (parte aérea) em plantas da cv. Pérola contendo Biomassa cítrica (Figura 1A). Haja vista, que o produto apresenta ação revigorante e antiestressante em decorrência dos distúrbios ocasionados por fatores bióticos e abióticos (Garcia, 2004), o que pode ter contribuído também para que não houvesse custos energéticos durante a ativação de defesas na planta (Figura 3 e 1B).

Por outro lado, a diminuição da massa seca (raízes) para as plantas tratadas com ASM e em conjunto com *B. subtilis* demonstrou que a indução de resistência pode ter representado um custo energético (Figura 1B). Tal efeito deletério possa ser devido ao aumento da respiração das plantas, uma vez, que esse fenômeno consome fotoassimilados que poderiam fazer parte dos tecidos de reserva (Kuhn, 2007). Contudo, para que seja viável a utilização de ASM num programa de manejo integrado da fusariose em abacaxizeiro é necessário que o custo da indução de resistência seja compensado pela diminuição da intensidade da doença, visto que o indutor foi eficiente quando aplicado isolado no controle da fusariose.

Com relação a cv. BRS Imperial a ativação das respostas de defesas, sem modificações no seu crescimento vegetativo (Tabela 3, Figura 1C e 1D), relacionada a aplicação dos indutores, evidencia que há uma distinção entre cultivares e estados de desenvolvimento em respostas de defesa em abacaxizeiro.

### 5.1. Avaliações dos efeitos dos indutores na fusariose

A fusariose (*F. guttiforme*) do abacaxizeiro é favorecida em condições de alta umidade associada a chuvas e temperaturas entre 15°C e 25°C, que agravam acentuadamente a disseminação e os sintomas da doença (Verzignassi et al., 2006). No presente estudo, a umidade relativa do ar e temperatura média registrada na data de inoculação de *F. guttiforme* foi de 90,08% e 24,3% respectivamente, o que proporcionou condições ideais para o processo infeccioso do patógeno (Apêndice B).

Quanto a menor severidade da fusariose nas plantas tratadas com Biomassa cítrica (Tabela 5), este pode indicar que o produto manifestou duplo efeito no controle do patógeno, no sentido de inibição do processo infeccioso do *F. guttiforme* e na indução de resistência (Cavalcanti et al., 2006). A inobservância de efeito sinérgico entre a associação de Biomassa cítrica + *B. subtilis* demonstra que não houve interferência da rizobactéria nesse tratamento para indução de resistência (Tabela 5).

Assim como em abacaxizeiro, o efeito ambíguo de Biomassa cítrica já foi demonstrado em outro patossistema. Cavalcanti et al., (2006), avaliando a eficácia da pulverização foliar em tomateiro de Biomassa cítrica contra *Xanthomonas vesicatoria*, observaram que o extrato conferiu uma proteção de 39,2%. Os autores sugerem que esse efeito seja devido às altas concentrações de polifenóis e moléculas correlatas observadas nesse produto que podem ter induzido toxidez direta sobre as bactérias. Tal qual, ao aumento da atividade de enzimas relacionadas à patogênese, o que demonstra similaridade aos resultados observados neste presente estudo.

Nas plantas tratadas com ASM, contudo, foi possível observar controle inferior da fusariose em relação aos tratamentos com Biomassa cítrica na cultivar Pérola (Figura 2A). A ação de ASM ocorreu através da indução de resistência, visto que, o produto não possui ação direta sobre o patógeno, uma vez, que age sobre as plantas causando alterações bioquímicas no seu metabolismo, levando a uma realocação de fotoassimilados para a defesa (Kunh, 2007). Para o tratamento ASM + *B. subtilis*, a

ineficiência conjunta no controle da fusariose pode estar relacionada com uma interferência do indutor biótico no mecanismo de reconhecimento do ASM ou no processo de sinalização, interferindo na expressão gênica potencialmente induzida pelo ASM (Figura 2).

Por outro lado, a forma de aplicação de *B. subtilis* na parte aérea, apesar de ter aumentado a atividade enzimática nas plantas, pode não ter sido tão eficiente na ativação de defesa em abacaxizeiro, visto que, já foi relatado em outro patossistema, uma maior eficiência do mesmo quando inoculado no solo (Araujo e Menezes, 2009). Os autores relatam que o indutor também proporcionou um maior acúmulo enzimático quando comparado às pulverizações na planta. Diante disso, se faz necessária a realização de estudos futuros afim de averiguar qual método de inoculação é mais eficiente na indução de resistência em abacaxizeiro.

Com relação aos sinais da presença de *F. guttiforme* em todos os tratamentos inoculados com o patógeno, demonstra que a inoculação foi eficiente apesar de não ser o método mais usual (Tabela 4). Utilizando o mesmo método, porém, com o pincelamento de suspensão de conídios ( $10^7$  conídios por mL) no ferimento de inoculação de *F. guttiforme*, Coutinho (2010) verificou sintomas característicos da doença aos 30 dias após inoculação (gomose, amarelecimento, necrose e murcha de forma mais acentuada).

No que se refere a inconsistência observada nas plantas tratadas com *B. subtilis*, não houve uma correlação entre a ocorrência de mais doença na casa de vegetação e a quantidade de estruturas do fungo encontradas no laboratório com o teste de incubação. Isso pode ser explicado que na incubação da amostra, apenas a folha inoculada apresentou menos sinais do patógeno, em relação a severidade que representou uma amostra maior que foi a planta como um todo.

Entende-se também que é um fato comum as plantas não apresentarem sintomas do patógeno, porém, após a incubação manifestarem sinais do mesmo, como foi visualizado em algumas plantas que receberam o tratamento com Biomassa cítrica e também na testemunha apenas inoculada. De forma semelhante Mendes (2018), observou que após a incubação, 42% das plantas de algodoeiro apresentaram a estrutura do patógeno (*Ramularia areola*), no qual não tinha sido verificado sintomas da doença nas plantas.

## 5.2. Peroxidase (POX)

De maneira geral, a maior atividade de peroxidase ocorreu nos três primeiros horários de coletas nas duas cultivares (Figura 3), em função dessas enzimas estarem envolvidas nas primeiras respostas de defesas nas plantas ao ataque dos patógenos (Macagnan et al., 2008). Porém houve um decréscimo enzimático após esse período, o que pode ter representado um desbalanço entre a produção e o consumo de intermediários fenólicos, contribuindo para a queda dos fenóis totais (Cavalcanti et al., 2006). Tendo em vista que a atividade de polifenoloxidase também foi alta e decaiu abruptamente a partir das 96 HAI (Figura 4), como também a atividade de fenilalanina amônia-liase foi baixa nesse período (Figura 5) (Thangavelu et al., 2003; Cavalcanti et al., 2006).

Quanto à alta atividade de peroxidase visualizada no primeiro horário de coleta em TI em ambos os genótipos (Figura 3), demonstra que apenas o contato do patógeno na superfície das plantas pode ter desencadeado respostas de defesas, contribuindo para produção de conteúdo enzimático. Entretanto, as plantas tratadas com os indutores e inoculadas com o patógeno manifestaram respostas intensas mais duradouras. Essa observação concorda com o pensamento de Kuhn e Pascholati et al. (2007) no qual sugerem que o pré-condicionamento promovido pelos elicitores, melhora a comunicação e a percepção na chegada dos patógenos para os mecanismos de defesas da planta.

Desta forma, a estabilidade enzimática para as plantas tratadas com ASM nos primeiros horários de coleta em ambos os genótipos, pode ter sido crucial para a defesa em abacaxizeiro (Figura 3). Visto que é de grande importância para as plantas que suas defesas sejam ativadas nos primeiros dias após a chegada do patógeno, contribuindo para atenuação do progresso infeccioso do mesmo (Lorenzetti et al., 2018).

Sendo assim, a atividade de peroxidase proporcionada especialmente por ASM, pode ser atribuída à rota mediada pelo ácido salicílico, tendo como resultado a resistência sistêmica adquirida (SAR). Essa rota metabólica envolve diversos mecanismos de defesa, inclusive pela ativação de genes que codificam proteínas relacionadas à patogênese (Sticher; Mauch-Mani; Métraux, 1997).

Como em abacaxizeiro, a peroxidase já foi relatada como sendo ativada pelo ASM. O indutor induziu em plantas de pepino genes de peroxidase, e que quando também eram desafiadas com o patógeno (*Colletotrichum orbiculare*), havia aumento na atividade de peroxidase em relação às plantas não tratadas e inoculadas (Cools e Ishii, 2002).

### 5.3. Polifenoloxidase (POP)

Em relação à atividade de polifenoloxidase, o incremento proporcionado pelos tratamentos Biomassa cítrica, ASM e Biomassa cítrica + *B. subtilis* nos dois genótipos, demonstra o grau de eficiência que estes produtos manifestam na indução de resistência (Figura 4). Tendo em vista que ativação de polifenoloxidase já foi relacionada às respostas de defesas em mudas das cultivares Pérola e BRS Imperial inoculadas com *F. guttiforme* (Moreira et al., 2016).

Essa enzima oxida compostos fenólicos próximo ao local da descompartimentalização celular provocada por patógenos. Um dos resultados deste fenômeno é o aparecimento de substâncias escuras com propriedades antimicrobianas denominadas quinonas (Mohammadi e kazemi, 2002; Thipyapong; Hunt; Steffens, 2004; Liu et al., 2005). Diante disso, fica evidente que o escurecimento observado nos tecidos de abacaxizeiro próximos ao ferimento de inoculação do patógeno, possivelmente tem relação com as respostas de defesas das plantas.

Geralmente as polifenoloxidases são encontradas em maior quantidade em tecidos infectados de plantas resistentes (Agris, 2005). No entanto, pesquisas apresentam resultados variados em relação ao comportamento da enzima, dependendo da cultura e agente indutor. Orober et al. (1999) constataram que em plantas de pepino tratadas com fosfato, ocorreu maior atividade de polifenoloxidase nos tecidos infectados de cultivares resistentes. Soares et al., (2004) não observaram diferenças na atividade de POP nas folhas em cultivares de feijoeiro após aplicação de ASM independente do grau de resistência das plantas, o que corrobora com os resultados obtidos para abacaxizeiro.

#### **5.4. Fenilalanina amônia-liase (PAL)**

A fenilalanina amônia-liase é enzima chave e regulatória da rota biossintética dos fenilpropanoides e catalisa a desaminação do aminoácido L-fenilalanina, em ácido transcinâmico, sendo esse essencial para biossíntese dos fenólicos vegetais. Além disso, a PAL também participa da biossíntese do ácido salicílico (SA), sendo o mesmo sinalizador de proteínas relacionadas à patogênese (Appert et al., 2003 e Ritter Schulz, 2004).

A atividade observada nas plantas inoculadas com o fungo, mas que não receberam o tratamento com os indutores (Figura 5), pode estar relacionada ao estresse ocasionado pelo ferimento de inoculação do patógeno. Visto também, que as plantas apresentam uma quantidade dessa enzima para o desenvolvimento normal, entretanto através de estresses bióticos ou abióticos essa atividade tende aumentar (Saltveit, 2000; Rivero et al., 2001; Ritter; Schulz, 2004).

Quanto às oscilações no comportamento da PAL nas plantas tratadas com os indutores e inoculadas com o patógeno, a atividade inicial pode estar relacionada com o início de morte celular. Por outro lado, um maior pico após às 48 pode representar a acumulação tardia dos compostos fenólicos e lignificação da parede celular (Silva et al., 2002).

Deste modo, torna-se de grande relevância a realização de estudos com um maior período de avaliação, afim de verificar a duração das respostas de defesa em abacaxizeiro, visto que trabalhos com indutores bióticos e abióticos em outras culturas tem evidenciado atividade tardia da PAL, aos seis, oito e 12 dias após a indução (Campos et al., 2003; Saravanan et al., 2004).

#### **5.5. $\beta$ -1,3 glucanases (GLU)**

As  $\beta$ -1,3 glucanases estão diretamente relacionadas às respostas de defesa pelas plantas, juntamente com as quitinases, degradam os polissacarídeos que constituem a parede celular de bactérias e fungos patogênicos (Van Loon et al., 1994), além de enviarem respostas de defesa por meio oligossacarídeos eliciadores. Sendo assim a atividade de  $\beta$ -1,3 glucanase juntamente com as outras enzimas, evidenciada

pela ação dos indutores principalmente o ASM em abacaxizeiro, ampliam as possibilidades de ação e eficiência da planta na supressão do patógeno.

Os resultados de nosso estudo sugerem que a resistência da cv. BRS Imperial não proporcionou atividade superior ao genótipo suscetível nos tempos estudados (Figura 6). Entretanto, não se pode descartar a possibilidade de que um pico dessa enzima possa ter ocorrido antes das 24 HAI no genótipo resistente (Figura 6B). Proteínas PR como as GLU, possuem função imediata na defesa de plantas, com ação direta sobre as hifas invasoras (Van Loon et al., 2006). Outrossim, deve-se levar em conta que os mecanismos de defesa são dependentes do genótipo (Métraux 2001; Király et al., 2007).

Além disso, o fato de esse acúmulo das GLU ter sido mais expressivo nas plantas suscetíveis (Figura 6A), pode indicar que a síntese dessas enzimas hidrolíticas pode constituir uma ação do genótipo de abacaxizeiro, para suprimir o processo infectivo de *F. guttiforme*, visto que a evolução da doença foi mais pronunciada nesse genótipo.

Nota-se também, que a atividade das plantas inoculadas e que não receberam o tratamento com os indutores como citado anteriormente possa ser devido apenas ao contato do patógeno na planta, levando ao acúmulo dessa enzima. Porém, vale desatacar que além das GLU atuarem na proteção contra os fitopatógenos, as mesmas desempenham um papel fundamental na divisão celular, no tráfico de materiais através dos plasmodos, resistindo a estresses abióticos e estão envolvidos na formação de flores até a maturação da semente (Balasubramanian et al., 2012).

De maneira geral, não foi possível observar correlação entre atividade de  $\beta$ -1,3 glucanases e outras enzimas avaliadas no controle da fusariose, para as plantas tratadas com os indutores *B. subtilis* isolado e em conjunto com ASM. Tendo em vista, que o incremento observado por meio dos elicitores não resultaram em respostas eficientes no controle da doença. Desta forma, se faz necessário realizar estudos futuros afim de identificar quais outros mecanismos de defesa estariam envolvidos no controle da fusariose em abacaxizeiro.

## 6. CONCLUSÕES

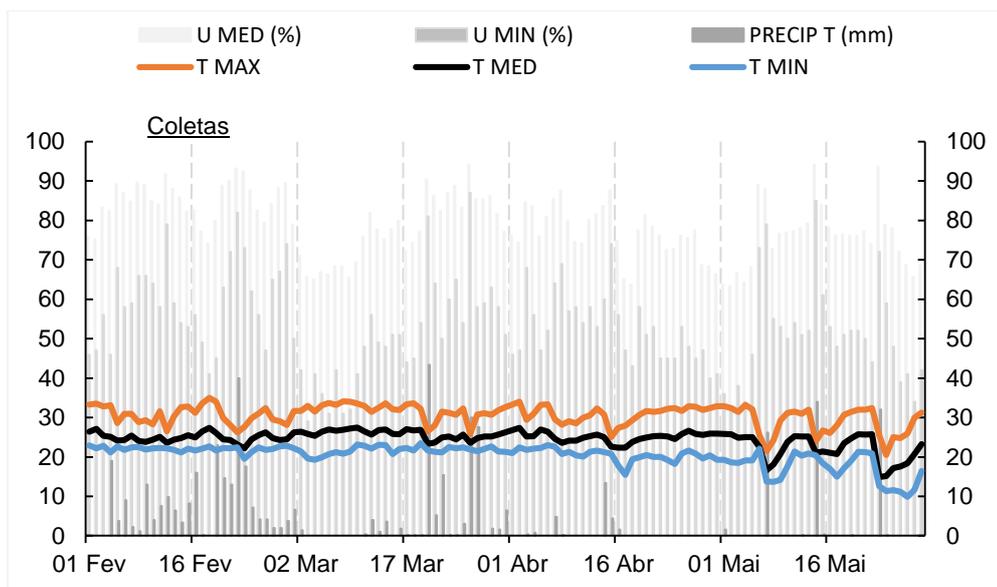
As plantas tratadas com *B. subtilis* e em conjunto com ASM e Biomassa cítrica manifestaram maior crescimento vegetativo em ambas cultivares, entretanto apenas os indutores Biomassa cítrica e Biomassa cítrica + *B. subtilis* proporcionaram o melhor controle da fusariose no genótipo suscetível. Além disso, foi possível verificar incremento da atividade de todas as enzimas por meio da ação dos indutores em ambos genótipos.

## APÊNDICE

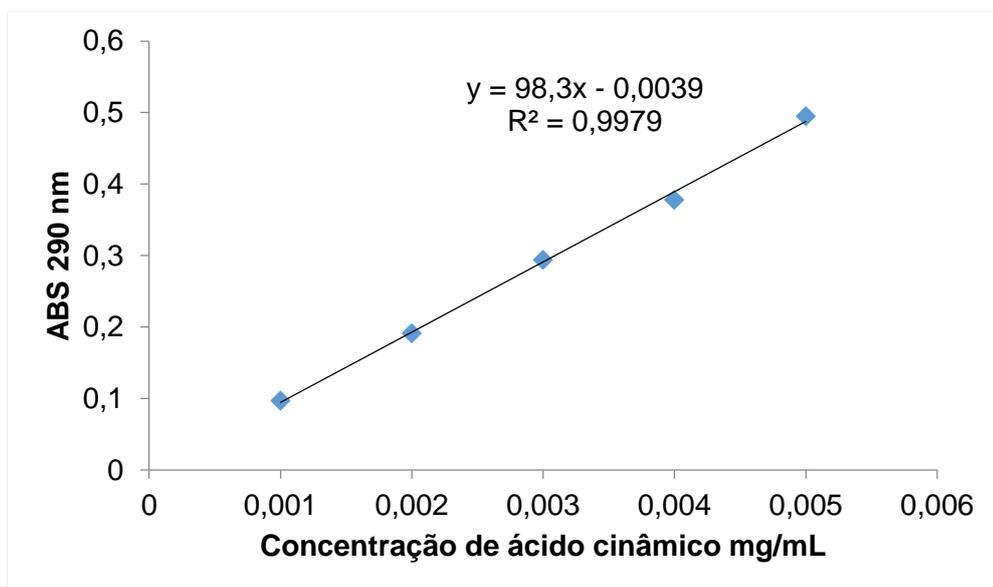
**Apêndice A.** Análise de variância em relação às características vegetativas e massa seca, observadas em abacaxizeiro (*Ananas comosus* L.).

FV	GL	AP1	AP5	CF1	CF5	LF1	LF5	QF1	QF5	MSA	MSR
Bloco	2	6,73	1,09	4,50	2,00	0,13	0,10	8,70	11,73	6,73	108,04
Indutor (I)	6	14,67 <sup>ns</sup>	10,66 <sup>ns</sup>	14,38 <sup>ns</sup>	17,20 <sup>ns</sup>	0,03 <sup>ns</sup>	0,03 <sup>ns</sup>	10,00 <sup>ns</sup>	14,61 <sup>ns</sup>	258,47 <sup>ns</sup>	198,00*
Cultivar (C)	1	3732,20**	6310,81**	2251,92**	2794,80**	11,46**	9,20**	53,95 <sup>ns</sup>	49,94 <sup>ns</sup>	15108,85**	341,20*
IXC	5	54,28*	30,21 <sup>ns</sup>	52,37*	58,76**	0,22**	0,15*	20,52 <sup>ns</sup>	16,51 <sup>ns</sup>	718,79*	106,92 <sup>ns</sup>
Erro	26	17,56	12,43	18,16	17,03	0,07	0,06	15,08	16,04	262,93	68,68
Média Geral	-	27,71	32,00	25,81	28,70	1,81	2,08	30,48	30,81	62,25	30,33
CV	-	15,12	11,02	16,51	14,38	14,50	11,68	12,74	13,00	26,05	27,32

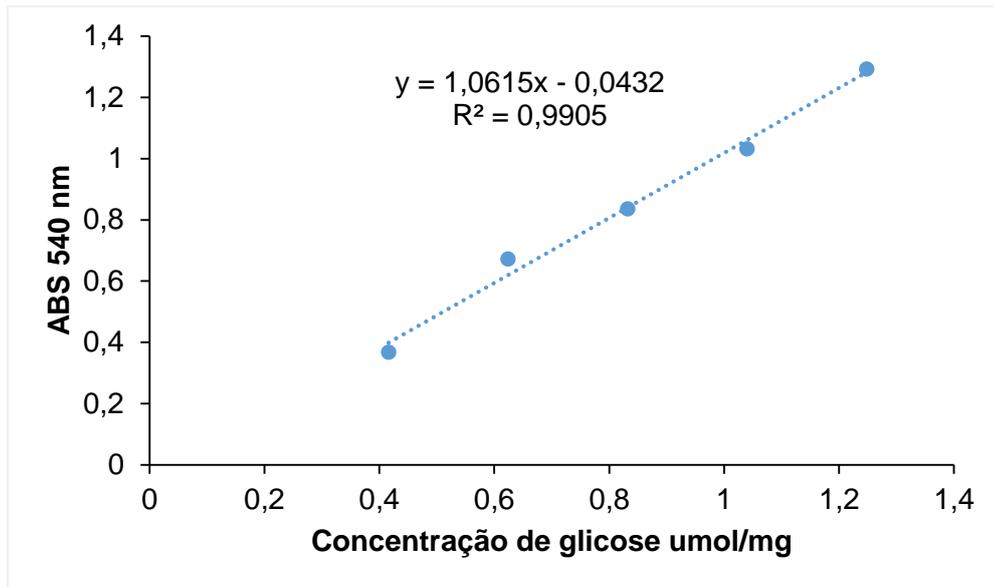
<sup>ns</sup>Não significativo, \*\* Significativo a 1% de probabilidade de erro e \*Significativo a 5% de probabilidade de erro, pelo Teste F. (AP) Altura de planta, (CF) comprimento de folha D, (LF) largura de folha D, (QF) quantidade de folhas ativas, (MSA) massa seca da parte aérea, (MSR) massa seca da raiz, primeira avaliação (1), quinta avaliação (5).



**Apêndice B.** Umidade Média Relativa do Ar (%), Umidade Mínima Relativa do Ar (%), Precipitação (mm), Temperatura Máxima (°C), Temperatura Média (°C), Temperatura mínima (°C), monitorada de fevereiro a maio de 2020, período de execução do experimento. A linha em negrito no gráfico indica o momento de coleta das folhas.



**Apêndice C.** Curva padrão para ácido cinâmico a 290 nm para determinação da atividade de Fenilalanina amônia-liase em folhas de abacaxizeiro.



**Apêndice D.** Curva padrão para glicose a 540 nm para determinação da atividade de  $\beta$ -1,3- glucanase em folhas de abacaxizeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5. ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005. 922p.
- AMARAL, D. R. **Formulações de extratos vegetais e micronutrientes na indução de resistência em mudas de cafeeiro contra *Cercospora coffeicola***. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2008. 92p. (Tese – Doutorado em Fitopatologia).
- APPERT, C.; ZÓN, J.; AMRHEIN, N. Kinetic analysis of the inhibition of phenylalanine ammonia-lyase by 2-aminoindan-2-phosphonic acid and other phenylalanine analogues. **Phytochemistry**. 62:415-422, 2003.
- ARAUJO, F. F.; MENEZES, D. Indução de resistência a doenças foliares em tomateiro por indutores biótico (*Bacillus subtilis*) e abiótico (Acibenzolar-S-Metil). **Summa Phytopathologica**. 35:169-172, 2009.
- BALDOTTO, L. E. B.; BALDOTTO, M. A.; OLIVARES, F. L.; VIANA, A. P.; BRESSAN-SMITH, R. Seleção de bactérias promotoras de crescimento no abacaxizeiro cultivar Vitória durante a aclimatização. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. 34:349-360, 2010.
- BALASUBRAMANIAN, V.; VASHISHT, D.; CLETUS, J.; SAKTHIVEL, N. Plant  $\beta$ -1,3-glucanases: Their biological functions and transgenic expression against phytopathogenic fungi. **Biotechnology Lett**, 34:1983-1990, 2012.
- BARROS, F. C.; SAGATA, E.; FERREIRA, L. D. C.; JULIATTI, F. C. Indução de resistência em plantas contra fitopatógenos. **Bioscience Journal**. 26:231-239, 2010.
- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. 1. ed. Jaguariúna-SP: Embrapa Meio Ambiente, 2009. 341p.
- BOL, J. F.; LINTHORST, H. J. M.; CORNELISSEN, B. J. C. Plant pathogenesis related proteins induced by virus infection. **Annual Review of Phytopathology**. 28:113-138, 1990.
- BONALDO, S. M.; PASCHOLATI, S. F.; ROMEIRO, R. S. Indução de resistência: noções básicas e perspectivas. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S (eds.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 11-28p.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**. 72:248-254, 1976.
- BREWBAKER, J. L.; GORREZ, D. D. Genetics of self-incompatibility in the Ixonocot genera, ananas (pineapple) and gasteria. **American Journal of Botany**. 54:611-616, 1967.

- BRUEHL, G. W. **Soilborne Plant Pathogens**. New York: MacMillan, 1987. 368p.
- CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York NY: Wiley, 1990. 532 p.
- CAMPOS, A. D.; SILVEIRA, E. M. L. **Metodologia para determinação da peroxidase e da polifenol oxidase em plantas**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2003. 3p. (Comunicado Técnico, 87).
- CAMPOS, A. D.; FERREIRA, A. G.; HAMPE, M. M. V.; ANTUNES, I. F.; BRANCÃO, N.; SILVEIRA, E. P.; SILVA, J. B.; OSORIO, V. A. Induction of chalcone synthase and phenylalanine ammonia-lyase by salicylic acid and *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean. **Brazilian Journal of Plant Physiology**.15:129-134, 2003.
- CARVALHO, P. R. S.; BARRETO, M.; CAMARGO, M. **Extratos vegetais: potencial elicitador de fitoalexinas e atividade antifúngica em antracnose do cajueiro**. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, 2010. 51p. (Tese – Doutorado em Agronomia e Produção Vegetal)
- CAVALCANTI, F. R.; RESENDE, M. L. V.; ZACARONI, A. B.; JÚNIOR, P. M. R.; COSTA, J. C. B.; SOUZA, R. M. Acibenzolar-S-metil e Ecolife® na indução de respostas de defesa do tomateiro contra a mancha bacteriana (*Xanthomonas vesicatoria*). **Fitopatologia Brasileira**. 31:372-380, 2006.
- CHAN, H. E.; LEE, H. K. Breeding for early fruiting in pineapple. **Acta Horticulturae**. 291:60-70, 2000.
- CHITTOOR, J. M.; LEACH, J. E.; WHITE, F. F., Differential induction of a peroxidase gene family during infection of rice by *Xanthomonas oryzae* v. *oryzae*. **Molecular Plant- Microbe Interactions**.10:861-871, 1997.
- COLE, D. L. The efficacy of acibenzolar-S-methyl, an inducer of systemic acquired resistance, against bacterial and fungal disease of tobacco. **Crop Protection**.18:267-273, 1999.
- CONAB-COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Evolução dos custos de produção de soja no Brasil**. Compêndio de Estudos Conab, Brasília, DF, v. 24, 2020. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/institucional/publicacoes/compendio-de-estudos-da-conab/item/13010-compendio-de-estudos-da-conab-v-24-a-participacao-do-abacaxi-no-desenvolvimento-economico-nas-regioes-produtoras>. Acesso em: 15, abril, 2021.
- CONSTABEL, C. P.; BERGEY, D. R.; RYAN, C. A. Systemin activates synthesis of wound-inducible tomato leaf polyphenol oxidase via the octadecanoid defense signaling pathway. **Proceedings of the National Academy of Science USA**. 92:407-411, 1995.
- COOLS, H. J.; ISHII, H. Pre-treatment of cucumber plants with acibenzolar-S-methyl systemically primes a phenylalanine ammonia lyase gene (PAL1) for enhanced

expression upon attack with a pathogenic fungus. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London. 61:273-282, 2002.

COPPENS D'EECKENBRUGGE, G.; DURVAL, M. F.; VAN MIEGROET, F. Fertility and self-incompatibility in the genus *Ananas*. **Acta Horticulturae**. 334:45-51, 1993.

CORNELISSEN, B. J. C.; MELCHERS, L. S. Strategies for control of fungal diseases with transgenic plants. **Plant Physiology**. 101:709-712, 1993.

COTIAS-DE-OLIVEIRA, A. L. P.; ASSIS, J. G. A. D.; BELLINTANI, M. C.; ANDRADE, J. C. S.; GUEDES, M. L. S. Chromosome numbers in Bromeliaceae. **Genetics and Molecular Biology**. 23:173-177, 2000.

COUTINHO, O. L. **Comportamento in vitro e patogenicidade de isolados de *Fusarium guttiforme* em abacaxizeiro, oriundos dos estados da Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte**. Areia: Universidade Federal da Paraíba, 2010. 51p. (Tese – Doutorado em Agronomia).

CRUZ, S. M. C.; RODRIGUES, A. A. C.; COELHO, R. S. B.; SARDINHA, D. H. S. Ação indutora de produtos abióticos na resistência de tomateiro e efeito sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. **IDESIA**. 29:111-118, 2011.

CUTT, J. R.; KLESSIG, D. F. Pathogenesis-related proteins. In: BOLLER, T.; MEINS Jr. F. (eds.). **Plant gene research: Genes involved in plant defense**. Wien: Springer-Verlag, 1992. p. 209-243.

DALLACORT, R.; MARTINS, J. A.; INOUE, M. H.; FREITAS, P. S. L.; COLETTI, A. J. Distribuição das chuvas no município de Tangará da Serra, médio norte do Estado de Mato Grosso, Brasil. **Acta Scientiarum Agronomy**. 33:193-200, 2011.

DALLAGNOL, L. J.; ARAÚJO FILHO, J. V. **Resistência genética de plantas a patógenos**. Pelotas: UFPel, 2018. v. 400, 437p.

DALLAGNOL, L. J.; NAVARINI, L.; UGALDE, M. G.; BALARDIN, R. S.; CATELLAM, R. Utilização de Acibenzolar-S-Methyl para controle de doenças foliares da soja. **Summa phytopathologica**. 32:255-259, 2006.

DANN, E. K.; DEVERALL, B. J. Activation of systemic disease resistance in pea by an avirulent bacterium or benzothiadiazole, but not by a fungal leaf spot pathogen. **Plant Pathology**. 49:324-332, 2000.

DANTAS, S. A. F.; OLIVEIRA, S. M. A.; BEZERRA NETO, E.; COELHO, R. S. B.; SILVA, R. L. X. Indutores de resistência a patógenos pós-colheita de manga. **Summa Phytopathologica**. 30:314-319, 2004.

DARVILL, A. G.; ALBERSHEIM, P. Phytoalexins and their elicitors - A defense against microbial infection in plants. **Annual Review of Plant Physiology**. 35:243-275, 1984.

DIETRICH, R.; PLOSS, K.; HEIL, M. Growth responses and fitness costs after induction of pathogen resistance depend on environmental conditions. **Plant, Cell and Environment**. 28:211-222, 2005.

DIXON, R. A.; PAIVA, N. L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. **Plant Cell**. 7:1085-1097, 1995.

EGAMBERDIEVA, D.; WIRTH, S. J., ALQARAWI, A. A., ABD\_ALLAH, E. F.; HASHEM, A. Phytohormones and beneficial microbes: essential components for plants to balance stress and fitness. **Frontiers in microbiology**. 8:1-14, 2017.

ERWIN, D. C.; RIBEIRO, O. K. **Phytophthora Diseases Worldwide**. St. Paul: APS Press, 1996. 562p.

FAO. **Major tropical fruits market review 2019**. Rome, 11p. Disponível em: <http://www.fao.org/publications/card/en/c/CB0834EN/>. Acesso em: 18, abril, 2021.

FAO. **Major tropical fruits market review february 2020 snapshot 2020**. 5p. Disponível: <http://www.fao.org/economic/est/est-commodities/tropical-fruits/en/>. Acesso em: 18, abril, 2021.

FERNANDES, C. F.; JÚNIOR, J. R. V.; SILVA, D. S. G.; REIS, N. D.; JÚNIOR, H. A. **Mecanismos de defesa de plantas contra o ataque de agentes fitopatogênicos**. Rondônia: Embrapa, 2009. 14p. (Documentos, 133).

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e agrotecnologia**. 38:109-112, 2014.

FERREIRA, F. R.; CABRAL, J. R. S. Ocorrência e distribuição geográfica de espécies de *Ananas* e *Pseudonanas*. In: Congresso Brasileiro de fruticultura, Salvador, BA. 1994 **Resumos...** Salvador: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1994, p.32.

FURTADO, L. M.; RODRIGUES, A. A. C.; ARAÚJO, V. S. D.; SILVA, L. L. S.; CATARINO, A. D. M. Utilização de Ecolife® e Acibenzolar-s-metil (ASM) no controle da antracnose da banana em pós-colheita. **Summa Phytopathologica**. 36:237-239, 2010.

GARCIA, F. A. O. **Efetividade de formulações de procariontes residentes de filoplano no controle biológico de doenças do tomateiro**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2004. 42p. (Dissertação – Mestrado em Fitopatologia).

GAYLER, S.; LESER, C.; PRIESACK, E.; TREUTTER, D. Modelling the effect of environmental factors on the “trade-off” between growth and defensive compounds in young apple trees. **Trees**. 18:363-371, 2004.

GOMES, M. R. A.; OLIVEIRA, M. G. A.; CARNEIRO, G. E. S.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. Propriedades físico-químicas de polifenoloxidase de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Science and Technology**. 21:69-72, 2001.

GRANADA, G. G.; ZAMBIAZI, R. C.; MENDONÇA, C. R. B. Abacaxi: Produção, mercado e subprodutos. **B. CEPBPA**. 22:405-422, 2004.

HAMMERSCHMIDT, D.; DANN, E.K. Induced resistance to disease. In: RECHCIGL, N.A.; RECHCIGL, J. E. (eds.). **Environmentally safe approaches to crop disease control**. Boca Raton: CRC-Lewis Publishers, 1997. p. 177-199.

HEIL, M.; BALDWIN, I. T. Fitness costs of induced resistance: emerging experimental support for a slippery concept. **Trends in Plant Science**. 7:61-67, 2002.

HEIL, M.; HILPERT, A.; KAISER, W.; LINSENMAYER, E. Reduced growth and seed set following chemical induction of pathogen defence: does systemic acquired resistance (SAR) incur allocation costs?. **Journal of Ecology**. 88:645–654, 2000.

HIRAGA, S.; SASAKI, K.; ITO, H.; OHASHI, Y.; MATSUI, H. A large family of class III plant peroxidases. **Plant and Cell Physiology**. 42:462-468, 2001.

HYODO, H.; YANG, S. F. Ethylene-enhanced synthesis of phenylalanine ammonia lyase in pea seedlings. **Plant Physiology**. 47:765-770, 1971.

IAC- Instituto Agronômico de Campinas. **Cultivar de abacaxizeiro IAC Fantástico**, 2010. Disponível em: <https://www.iac.sp.gov.br/cultivares/inicio/Folders/Abacaxi/IACFant%C3%A1stico.htm>. Acesso em: 14, outubro, 2020.

IBGE, cidades. **Produção agrícola – Lavoura temporária**. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/14/0>. Acesso em: 15, novembro, 2020.

IRITI, M.; FAORO, F. Benzothiadiazole (BTH) induces cell-death independent resistance in *Phaseolus vulgaris* against *Uromyces appendiculatus*. **Journal of Phytopathology**. 151:171-180, 2003.

JONES, D. H. Phenylalanine ammonia-lyase: regulation of its induction, and its role in plant development. **Phytochemistry**. 23:1349-1359, 1984.

JÚNIOR, J. R. V.; FERNANDES, C. F.; JÚNIOR, H. A.; SILVA, M. S.; SILVA, D. S. G.; SILVA, U. O. **Rizobactérias como agentes de controle biológico e promotores de crescimento de plantas**. Porto Velho: Embrapa, 2013. 15p. (Documentos, 155).

KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia**. 3.ed. São Paulo: v.2. Agronômica Ceres. 1997, 774 p.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: v.2. Agronômica Ceres, 2005. 663p.

KIMATI, H.; TOKESHI, H. Nota sobre a ocorrência de *Fusarium* sp. causando resinose em abacaxi. **Revista de Agricultura**. 39:131-33, 1964.

KIRÁLY, L.; BARNA, B.; KIRÁLY, Z. Plant resistance to pathogen infection: forms and mechanisms of innate and acquired resistance. **Journal of Phytopathology**. 155:385-396, 2007.

KLOEPPER, J. W.; SCHROTH, M. N. Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. In: 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria: Comptes Rendus de la 4e Conference Internationale Sur Les Bacteries Phytopathogenes, 1978, Angers. **Proceedings...** Angers: Gilbert-Clarey, Tours, 1978. p.879-882.

KUHN, J. O. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S- metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2007. 140 p. (Tese – Doutorado em fitopatologia).

KUHN, O. J.; PASCHOLATI, S. F. Custo adaptativo da indução de resistência em feijoeiro mediada pela rizobactéria *Bacillus cereus* ou acibenzolar-S-metil: atividade de enzimas, síntese de fenóis e lignina e biomassa. **Summa Phytopathologica**. 36:107-114, 2010.

LAGRIMINI, L. M.; BURKHART, W.; MOYER, M.; ROTHSTEIN, S. Molecular cloning of complementary DNA encoding the lignin-forming peroxidases from tobacco: molecular analysis and tissue-specific expression, **Proceedings of the National Academy of Sciences**. 84:7542-7546, 1987.

LEAL, F.; ANTONI, M. G. Espécies del género *Ananas*: Origen y distribución geográfica. **Revista de la Facultad de Agronomía**. 5-12, 1981.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. ***Fusarium laboratory manual***. Blackwell Publishing, 2006. 387p.

LEITE, B.; RONCATO, L. D.; PASCHOLATI, S. F.; LAMBAIS, M. R. Reconhecimento e transdução de sinais moleculares em interações plantas-fungos patogênicos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. 5:235-280, 1997.

LEUBNER-METZGER, G.; MEINS, F. Functions and regulation of plant  $\beta$ -1,3-glucanases (PR-2). In: DATTA, S. K.; MUTHUKRISHNAN, S. (eds.). **Pathogenesis-related proteins in plants**. Boca Raton: CRC Press, 1999. p.49-76.

LIU, H.; JIANG, W.; BI, Y.; LUO, Y. Postharvest BTH treatment induces resistance of peach (*Prunus persica* L. cv. Jiubao) fruit to infection by *Penicillium expansum* and enhances activity of fruit defense mechanisms. **Postharvest Biology and Technology**. 35:263-269, 2005.

LORENZETTI, E.; STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; PORTZ, R. L. Indução de resistência à *Macrophomina phaseolina* em soja tratada com extrato de alecrim. **Summa Phytopathologica**. 44:45-50, 2018.

LOUWS, F. J.; WILSON, M.; CAMPBELL, H. L.; CUPPELS, D. A.; JONES, J. B.; SHOMAKER, P. B.; SAHIN, F.; MILLER, S. A. Field control of bacterial spot and bacterial speck of tomato using a plant activator. **Plant Disease**. 85:481-488, 2001.

MACAGNAN, D.; ROMEIRO, R. S.; BARACAT-PEREIRA, M. C.; LANNA-FILHO, R.; BATISTA, G. S.; POMELLA, A. W. V. Atividade de enzimas associadas ao estado de indução em mudas de cacauete expostas a dois actinomicetos residentes de filoplano. **Summa Phytopathologica**. 34:34-37, 2008.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2015. Disponível em: [https://www.extrapratica.com.br/BR\\_Docs/Portuguese/Instructions/12.pdf](https://www.extrapratica.com.br/BR_Docs/Portuguese/Instructions/12.pdf). Acesso em: 18, agosto, 2020.

MARKOVICH, N. A.; KONONOVA, G. L. Lytic enzymes of *Trichoderma* and their role in plant defense from fungal diseases: a review. **Applied Biochemistry and Microbiology**. 39:341-351, 2003.

MATOS, A. P.; CORDEIRO, Z. J. M.; HADDAD, F. Fusariose em frutíferas. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 22, Bento Gonçalves, RS. 2012. **Anais...** Bento Gonçalves: SBF, 2012.

MATOS, A. P.; JUNGHANS, D. T.; SPIRONELLO, A. Variedades de abacaxi resistentes à fusariose. In: Semana Internacional da Fruticultura e Agroindústria, Fortaleza, CE. 2011. **Anais...** Fortaleza: Frutal, 2011.

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

MAUCH, F.; STAEHELIN, L. A. Functional implications of the subcelular localization of ethylene-induced chitinase and  $\beta$ -1,3-glucanase in bean leaves. **Plant Cell**. 1:447-457, 1989.

MAYER, A. M.; HAREL, E. Polyphenol oxidases in plants. **Phytochemistry**. 18: 193-215, 1979.

MELO, L. G. L.; SILVA, E. K. C. S.; NETO, J. R. M. C.; LINS, S. R. O.; RODRIGUES, A. A. C.; OLIVEIRA, S. M. A. Indutores de resistência abióticos no controle da fusariose do abacaxi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 51:1703-1709, 2016.

MELO, L. G. L. **Indução de resistência no manejo da fusariose e podridão negra do abacaxi**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2016. 72p. (Tese – Doutorado em Fitopatologia).

MENDES, I. R. N. **Práticas agrícolas no manejo da mancha de ramulária no algodoeiro**. Tangará da Serra: Universidade do Estado de Mato Grosso, 2018. 66p. (Dissertação – Mestrado em Ambiente e Sistemas de Produção Agrícola).

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

MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. **Trichoderma: uso na agricultura**. 1. ed. Brasília: Embrapa Soja, 2019. 538p.

MOHAMMADI, M.; KAZEMI, H. Changes in peroxidase and polyphenol oxidases activities in susceptible and resistance wheat heads inoculated with *Fusarium graminearum* and induced resistance. **Plant Science**. 162:491-498, 2002.

MOREIRA, B. C.; JUNIOR, P. P.; JORDAO, T. C.; DA SILVA, M. D. C. S.; STÜRMER, S. L.; SALOMÃO, L. C. C.; OTONI, W. C.; KASUYA, M. C. M. Effect of inoculation of symbiotic fungi on the growth and antioxidant enzymes' activities in the presence of *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* in pineapple plantlets. **Acta Physiologiae Plantarum**. 38:1-14, 2016.

NANDAKUMAR, R.; BABU, S.; VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; SAMIYAPPAN, R. Induction of systemic resistance in rice against sheath blight disease by *Pseudomonas fluorescens*. **Soil Biology and Biochemistry**. 33:603-612, 2001.

NIRENBERG HI, O'DONNELL K. New *Fusarium* species and combinations within the *Gibberella fujikuroi* species complex. **Mycologia**. 90:434-458, 1998.

NOGUEIRA, S. R.; LIMA, F. S.; ROCHA, E. M.; ARAÚJO, D. H. Fungicidas no controle de fusariose do abacaxi no estado de Tocantins, Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**. 37:447-455, 2014.

OLIVEIRA, M. D. M.; NASCIMENTO, L. C. Avaliação da atividade de indutores de resistência abiótica, fungicida químico e extratos vegetais no controle da podridão-negra em abacaxi 'Pérola'. **Revista Brasileira de Fruticultura**. 1:84-89. 2009.

OOSTENDORP, M.; KUNZ, W.; DIETRICH, B.; STAUB, T. Induced disease resistance in plants by chemicals. **European Journal of Plant Pathology**. 107:19-28. 2001.

ORBER, M.; SIEGRIST, J.; BUCHENAUER, H.; LYR, H.; RUSSEL, P. E.; DEHNE, H. W.; SISLER, H. D. Induction of systemic acquired resistance in cucumber by foliar phosphate application. In: International Reinhardsbrunn Symposium, 12, 1999, Thuringia. **Proceedings...** Thuringia: International Reinhardsbrunn Symposium, 1999. p.339-348, 1999.

PASCHOLATI, S. F.; DALIO, R. J. D. Fisiologia do parasitismo: como as plantas se defendem dos patógenos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A. (eds.). **Manual de Fitopatologia**. 5. ed. Ouro Fino: Ceres, 2018. p. 424-450.

PERSONA, R. EMPAER realiza pesquisa com a cultura do abacaxi. **Boletim: Secretaria de Estado de Agricultura Familiar (SEAF)**. Disponível em: <http://www.mt.gov.br/-/5297362-pesquisadores-da-empaer-apresentam-variedade-de-abacaxiresistente-a-fusariose>. Acesso em: 01, abril, 2021.

PETRAS, S. F.; CASIDA, L. E. J. Survival of *Bacillus thuringiensis* spores in soil. **Applied and Environmental Microbiology**. 50:1496-1501, 1985.

PIETERSE, C. M. J.; VAN LOON, L. C. Salicylic acid-independent plant defense pathways. **Trends in plant science**. 4:52-58, 1999.

PIETERSE, C. M.; ZAMIOUDIS, C.; BERENDSEN, R. L.; WELLER, D. M.; VAN WEES, S. C.; BAKKER, P. A. Resistência sistêmica induzida por micróbios benéficos. **Revisão anual de fitopatologia**. 52:347-375, 2014.

PURRINGTON C. B. Cost of resistance. **Current Opinion in Plant Biology**. 3:305-308, 2002

PY, C.; LACOEUILHE, J. J.; TEISON, C. **L'Ananas. Sa cultura, ses produits**. Paris: Maisonneuve e Larose, 1984. 562p.

QIN, G. Z.; TIAN, S. P.; XU, Y.; WAN, Y. K. Enhancement of biocontrol efficacy of antagonistic yeasts by salicylic acid in sweet cherry fruit. **Fisiologia e Patologia Molecular das Plantas**. 62:147-154, 2003.

QUEIROZ, B. P. V. Q. **Isolamento e seleção de rizobactérias para promoção de crescimento e controle de *Phytophthora parasitica* em citros**. Rio Claro: Universidade Estadual Paulista, 2003. 120p. (Tese – Doutorado em Microbiologia Aplicada).

QUEIROZ, C. R. P.; LORENZONI, M. M.; FERREIRA, F. R.; CABRAL, J. R. S. **Catálogo de caracterização e avaliação de germoplasma de abacaxi**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2002. 52. (Documentos, 80).

RAMÍREZ-CARRASCO, G.; MARTÍNEZ-AGUILAR, K.; ALVAREZ-VENEGAS, R. Transgenerational defense priming for crop protection against plant pathogens: a hypothesis. **Frontiers in Plant Science**. 8:1-8, 2017.

REINHARDT, D. H. R. C.; CUNHA, G. A. P. **A propagação do abacaxizeiro**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. 59p.

REINHARDT, D. H.; SOUZA, L. F.; S.; CABRAL, J. R. S. **Abacaxi produção: aspectos técnicos**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. p.77.

REINHARDT, D. H.; CUNHA, G. A. P. Métodos de propagação. In: CUNHA, G. A. P.; CABRAL, R. R. S.; SOUZA, L. F. S. (orgs.). **O abacaxizeiro – cultivo, agroindústria e economia**. 1.ed. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. p. 105-138.

RESENDE, M. L. V.; COSTA, J. D. C. B.; CAVALCANTI, F. R.; RIBEIRO J. P. M.; CAMILO, F. R. Seleção de extratos vegetais para indução de resistência e ativação de respostas de defesa em cacaueteiro contra a vassoura-de-bruxa. **Fitopatologia Brasileira**. 32:213-221, 2007.

RESENDE, M. L.; NOJOSA, J. B. A.; AGUILAR, M. A. G.; SILVA, L. H. C. P.; NIELLA, G. R.; CARVALHO, G. A.; GIOVANNI, G.; CASTRO, M. C. Perspectivas da indução

de resistência em cacauzeiro contra *Crinipellis pernicioso* através do benzotiadiazole (BTH). **Fitopatologia Brasileira**. 25:149-156, 2000.

RITTER, H.; SCHULZ, G. E. Structural basis for the entrance into the phenylpropanoid metabolism catalyzed by phenylalanine ammonia-lyase. **Plant Cell**. 16:3426-3436, 2004.

RIVERO, R. M.; RUIZ, J. M.; GARCIA, P. C.; LOPEZ-LEFEBRE, L. R.; SÁNCHEZ, E.; ROMERO, L. Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. **Plant Science**. 160:315-21, 2001.

SALTVEIT, M. E. Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock. **Postharvest Biology and Technology**. 21:61-9, 2000.

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**. 27:101-103 p. 2002.

SANTOS, P. C.; FREITAS, S. J.; FREITAS, M. S. M.; SOUSA, L. B.; CARVALHO, A. J. C. Produção de mudas do tipo rebentão, utilizando coroas de três cultivares de abacaxi inoculadas com fungos micorrízicos. **Revista Brasileira de Fruticultura**. 33:954-961, 2011.

SARAVANAN, T.; BHASKARAN, R.; MUTHUSAMY, M. *Pseudomonas fluorescens* induced enzymological changes in banana roots (Cv. Rasthali) against *Fusarium* wilt. **Plant Pathology Journal** 3:72-80. 2004.

SHANER, G.; FINNEY, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat, **Phytopathology**. 70:1183 -1186, 1977.

SELITRENNIKOFF, C. P. Antifungal Proteins. **Applied and Environmental Microbiology**. 67:2883–2894, 2001.

SIEBENEICHLER, S. C.; MONNERAT, H. P; SILVA, A. J. Deficiência de boro na cultura do abacaxi 'Pérola'. **Acta Amazonica**. 38:651-656, 2008.

SILVA, H. F. D.; PINTO, K. M. S.; NASCIMENTO, L. C. D.; SILVA, E. C. D.; SOUZA, W. C. O. D. Avaliação do uso de elicitores de resistência bióticos e abióticos contra a antracnose na videira (*Vitis labrusca* L.). **Summa Phytopathologica**. 45:70-75, 2019.

SILVA, J. M. **Diversidade fúngica, seleção de genótipos e indução de resistência a *Colletotrichum* sp. em *Heliconiaceae***. Tangará da Serra: Universidade do Estado de Mato Grosso, 2018. 84p. (Dissertação – Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

SILVA, J. R. C; SOUZA, R. M.; ZACARONE, A. B.; SILVA, L. H. C. P.; CASTRO, A. M. S. Bactérias endofíticas no controle e inibição in vitro de *Pseudomonas syringae* pv. tomato, agente da pinta bacteriana do tomateiro. **Ciência e Agrotecnologia**. 32:1062-1072, 2008.

SILVA, L. H. C. P. **Resistência sistêmica ativada pelo acibenzolar-S-metil contra doenças em tomateiro**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2002. 89p. (Dissertação – Mestrado em Fitopatologia).

SILVA, M. C.; NICOLE, M.; GUERRA-GUIMARÃES, L.; RODRIGUES, J. R. C. J. Hypersensitive cell death and pos-haustorial defence responses arrest the Orange rust (*Hemileia vastatrix*) growth in resistant coffee leaves. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. 60:169-183, 2002.

SILVA, S. E. L.; SOUZA, A. G. C.; BERNI, R.F.; SOUZA, M.G. **A cultura do abacaxizeiro no Amazonas**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental-Circular Técnica (INFOTECA-E), 2004. 6p.

SILVA, W. C. **Sistema de produção para a cultura do abacaxi no Estado de Rondônia**. Porto Velho: Embrapa Rondônia-Sistema de Produção (INFOTECA-E), 2007. 39p.

SOARES, R. M.; MARINGONI, A. C.; LIMA, G. P. P. Ineficiência de acibenzolar-S-methyl na indução de resistência de feijoeiro comum à murcha-de-*curtobacterium*. **Fitopatologia Brasileira**. 29:373-377, 2004.

SOUZA, W. C. O. **Diversidade Genética de *Fusarium* spp. e manejo alternativo da fusariose do abacaxizeiro**. Areia: Universidade Federal da Paraíba, 2016. 93p. (Tese – Doutorado em Agronomia).

SOUZA, W. C.; NASCIMENTO, L. C.; OLIVEIRA, M. D.; PORCINO, M. M.; SILVA, H. A. Genetic diversity of *Fusarium* spp. in pineapple 'Pérola' cultivar. **European Journal of Plant Pathology**. 150:853-868, 2017.

STICHER, L.; MAUCH-MANI, B.; MÉTRAUX, J. P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**. 35:235-270, 1997.

THANGAVELU, R.; PALANISWAMI, A.; DORAISWAMY, S.; VELAZHAHAN R. The effect of *Pseudomonas fluorescens* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* on induction of defense enzymes and phenolics in banana. **Biologia Plantarum**. 46: 107-112, 2003.

THIPYAPONG, P.; HUNT, M.D.; STEFFENS, J. C. Antisense downregulation of polyphenol oxidase results in enhanced disease susceptibility. **Planta**. 220:105-117, 2004.

THORDAL-CHRISTENSEN, H.; BRANDT, J.; CHO, B. H.; RASMUSSEN, S. K.; GREGERSEN, P. L.; SMEDEGAARD-PETERSEN, V.; COLLINGE, D. B. cDNA cloning and characterization of two barley peroxidase transcripts induced differentially by the powdery mildew fungus *Erysiphe graminis*, **Physiological and Molecular Plant Pathology**. 40:395-409, 1992.

TIAN, D.; TRAW, M. B.; CHEN, J. Q.; KREITMAN, M.; BERGELSON, J. Fitness costs of R-gene-mediated resistance in *Arabidopsis thaliana*. **Nature**. 423:74-77, 2003.

VAN LOON, L. C.; PIERPOINT, W. S.; BOLLER, T.; CONEJERO, V. Recommendations for naming plant pathogenesis-related proteins. **Plant Molecular Biology Reporter**. 12:245-264, 1994.

VAN LOON, L. C.; BAKKER, P. A. H. M.; PIETERSE C. M. J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annual Review of Phytopathology**. 36:453-483, 1998.

VAN LOON, L. C.; VAN STRIEN, E. A. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. 55:85-97, 1999.

VAN LOON, L. C.; REP, M.; PIETERSE, C. M. J. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. **Annual Review of Phytopathology**. 44:135-162, 2006.

VAUGHN, K. C.; DUKE, S. O. Function of polyphenol oxidase in higher plants. **Physiologia Plantarum**. 60:106-112, 1984.

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

VENTURA, J. A.; CABRAL, J. R. S.; MATOS, A. P. 'Vitória': new pineapple cultivar resistant to fusariosis. **Acta Horticulturae**. 822:51-55, 2009.

VENTURA, J. A.; ZAMBOLIN, L. Controle das doenças do abacaxizeiro, In: ZAMBOLIN, L.; VALE, F. X. R.; MONTEIRO, A. J. A.; COSTA, H. (eds.). **Controle de doenças de plantas: fruteiras**. 1. ed. Viçosa: UFV, 2002. p.445-487.

VERZIGNASSI, J. R.; SANTOS, F. M.; MATOS, A. P.; BENCHIMOL, R. L.; POLTRONIERI, L. S.; JESUS, A. L.; SILVA, E. M. **Fusariose do abacaxizeiro no Pará**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2006. 3p. (Comunicado Técnico, 185).

WALTERS, D. R.; NEWTON, A. C.; LYON, G. D. Induced resistance: helping plants to help themselves. **Biologist**. 52:28-33, 2005.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; MONTEIRO, A. J. A.; COSTA, H. **Controle de doenças de plantas fruteiras**. 1. ed. Viçosa: UFV, 2002. v.2. 1314p.