

unesp



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Pós-graduação em Agronomia

**Eficiência do uso de indutores de resistência
de plantas no controle da antracnose
e mancha alvo da acerola
(*Malpighia emarginata* D. C.)**

Vivian Carré Missio

Ilha Solteira - SP

1210001531



unesp



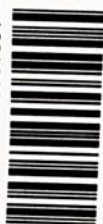
Eficiência do uso de indutores de resistência de plantas no controle da antracnose e mancha alvo da acerola (*Malpighia emarginata* D.C.)

VIVIAN CARRÉ MISSIO

Engenheira Agrônoma

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Marli de Fátima Stradioto Papa

1210001531



Proc. 063/04 - NPD 163

UNESP - "CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA"	
SERVIÇO TEC. DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO	
DATA DE CHEGADA	DATA DE TOMBO
28.09.04	30.10.04
REGISTRADO POR	TOMBO
Ailza	Te. 1531
AQUISIÇÃO	CLASSIFICAÇÃO
Ilha Solteira Anta R\$ 10,00	M678e

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia, Área de Concentração: Sistemas de Produção.

Ilha Solteira – São Paulo

Julho - 2004

Co Nys 226637
Nys 56583
50102010

Eficiência do uso de indutores de resistência de plantas no controle da antracnose e mancha alva da acerola (*Malpighia emarginata* D.C.)

VIVIAN CARRÉ MISSIO

Engenharia Agrônoma

Orientador: Prof. Dr. Marli de Fátima Stradioto Papa

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação/Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação da UNESP-Ilha Solteira

Missio, Vivian Carré

M678e Eficiência do uso de indutores de resistência de plantas no controle da antracnose e mancha alva da acerola (*Malpighia emarginata* D. C.) / Vivian Carré Missio. -- Ilha Solteira : [s.n.], 2004
xiii, 82 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de concentração: Sistemas de Produção, 2004.

Orientador: Marli de Fátima Stradioto Papa

Bibliografia: p. 72-82

1. Indução de resistência. 2. Inibição do crescimento micelial. 3. Inibição da germinação de esporos. 4. Fitopatologia.

Ilha Solteira - São Paulo

Julho - 2004

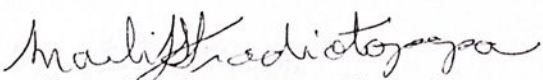


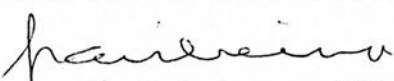
Eficiência do uso de indutores de resistência de plantas no controle da antracnose e mancha alvo da acerola (Malpighia emarginata D.C.)

Vivian Carré Missio

DISSERTAÇÃO APRESENTADA À FACULDADE DE ENGENHARIA DO CÂMPUS
DE ILHA SOLTEIRA – UNESP COMO PARTE DOS REQUISITOS PARA
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM AGRONOMIA

COMISSÃO EXAMINADORA:


Prof^a Dr^a Marli de Fátima Stradioto Papa – (Orientadora)


Dr. Iván José Antunes Ribeiro


Prof. Dr. Luiz de Souza Corrêa

Ilha Solteira/SP
Julho/2004

AGRADECIMENTOS

*À Deus,
pela oportunidade de vida,*

*Aos meus pais Nery e Elenir, meus melhores amigos,
os grandes responsáveis pela minha formação,*

*Ao meu marido Robson, companheiro e amigo
de todas as horas, pela paciência, incentivo e amor,*

DEDICO

*Aos meus irmãos Djne, Élvis e Ketty,
ao adorável Lorenzo e sua mamãe Luciane,*

A Vó Nilda (In memoria) e Vó Pierina,

OFEREÇO



AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista – Campus de Ilha Solteira, pela oportunidade de realização deste trabalho.

À FAPESP, pelo suporte financeiro através da concessão da bolsa de estudo e reserva técnica, possibilitando a realização deste trabalho.

Aos meus pais Nery e Elenir Carré, por aceitarem viver comigo o meu sonho, compartilhando alegrias e tristezas, doando muito amor e compreensão. Ofereço-lhes o sorriso que trago na face, fruto da esperança e luta que vocês fizeram brotar em mim a partir de cada gesto de carinho e apoio.

Ao meu marido Robson Fernando Missio, pelo companheirismo e amizade de todas as horas. Pela sua paciência e incansáveis incentivos aos estudos. Pela sua ajuda nos experimentos e análises estatísticas, que foram imprescindíveis para realização deste trabalho. E principalmente pelas atitudes de carinho e muito amor, sentimentos esses que o tornam uma pessoa única em minha vida.

À Prof^a. Dr^a. Marli de Fátima Stradioto Papa pela orientação, amizade, paciência e confiança, e por todos os ensinamentos.

Às companheiras Erika S. Naruzawa e Erica R. Moreira pela amizade, dedicação, companheirismo e preciosa ajuda na realização dos experimentos.

Ao amigo Prof. Dr. José Renato Stangarlin pelo apoio espiritual, incentivo e sugestões na realização deste trabalho.

Aos professores Ana Maria Rodrigues Cassiolato e Marco Eustáquio de Sá, pela amizade, e principalmente pelos ensinamentos e esclarecimentos de tantas dúvidas.



À Associação de Produtores de Acerola do município de Junqueirópolis-SP, pelo fornecimento das mudas de acerola para realização dos ensaios *in vivo*.

Ao Prof. Dr. Enes Furlani Junior e Prof. Dr. Paulo Cezar Ceresini pelo empréstimo do agitador orbital, para realização dos ensaios *in vitro* em meio de cultura líquido.

Ao Engenheiro Agrônomo João Luiz Pisa representante da empresa Quinabra, pelo fornecimento do produto Ecolife⁴⁰ para realização dos ensaios.

À banca examinadora, Dr. Ivan José Antunes Ribeiro, Prof. Dr. Luiz de Souza Corrêa e Prof^a. Dr^a. Marli de Fátima Stradioto Papa pelas preciosas críticas e sugestões à dissertação.

A todos os colegas do Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da F.E./UNESP - Campus de Ilha Solteira que compartilharam comigo todo o período de trabalhos laboratoriais, sabendo cultivar uma amizade repleta de companheirismo e respeito mútuo.

A todos que direta e indiretamente contribuíram para com a realização deste trabalho, meu muito obrigada.



**EFICIÊNCIA DO USO DE INDUTORES DE RESISTÊNCIA DE PLANTAS NO
CONTROLE DE ANTRACNOSE E MANCHA ALVO DA ACEROLA (*Malpighia
emarginata* D.C.)**

Autora: Vivian Carré Missio

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marli de Fátima Stradioto Papa

RESUMO

A partir de 2001, vem sendo constatado *Corynespora cassiicola* e *Colletotrichum gloeosporioides*, causando manchas foliares e queda precoce de folhas na região de Junqueirópolis, SP, a maior produtora de acerola do estado. Há dificuldade em se controlar doenças na cultura pela inexistência de produtos registrados e a preocupação com a presença de resíduos nos frutos e polpas, assim tornam-se necessários produtos com período residual curto. O presente trabalho objetivou estimar a fungitoxicidade de Quitosana, Acibenzolar-S-methyl, Ecolife⁴⁰, Trilogy, Borda Ferti, Nutri-phite e cinco fungicidas a *C. gloeosporioides* e *C. cassiicola*, e avaliar a indução de resistência de plantas de acerola contra *C. cassiicola*, através da Quitosana, de Acibenzolar-S-methyl aplicados isoladamente ou em mistura com os fungicidas Benomyl, Mancozeb ou Tebuconazole. Foram realizados ensaios *in vitro* em que se determinaram as inibições da germinação de esporos e dos crescimentos miceliais em meios líquido e sólido, e ensaios *in vivo* em que foram realizadas inoculações aos zero, três e cinco dias após aplicação dos produtos. Quitosana, Acibenzolar-S-methyl, Trilogy e Nutri-phite apresentaram pouca atividade fungitóxica sobre *C. gloeosporioides* e *C. cassiicola*. Ecolife⁴⁰ inibiu totalmente a germinação de esporos dos dois fungos, e proporcionou acima de 75 e 90% de inibição do crescimento micelial em meios sólido e líquido, respectivamente sobre *C. gloeosporioides* e *C. cassiicola*. Borda Ferti, Mancozeb, Oxicloreto de Cobre e Tebuconazole proporcionaram mais de 85% de inibição da germinação de esporos para *C.*



gloeosporioides e *C. cassiicola*. Acibenzolar-S-methyl apresentou razoável eficiência na indução de resistência em acerola contra *C. cassiicola*, reduzindo em 47% o número de lesões, e em 27% o diâmetro das lesões para o intervalo de cinco dias entre aplicação e inoculação. As soluções de Quitosana apresentaram maior inibição sobre o desenvolvimento da doença, a partir do intervalo de três dias entre aplicação dos produtos e inoculação de *C. cassiicola*. A mistura de Acibenzolar-S-methyl com Tebuconazole, foi a única que apresentou diferença significativa entre as épocas de inoculação, com maior efeito redutor sobre o número e tamanho das lesões para o intervalo de cinco, sugerindo que houve uma resposta do indutor somada à ação do fungicida.

EFICIENCE OF USE OF PLANT RESISTANCE INDUCTERS ON THE CONTROL OF ANTHRACNOSE AND TARGET SPOT OF THE ACEROLA (*Malpighia emarginata* D.C.)

Authora: Vivian Carré Missio

Adviser: Prof^a. Dr^a. Marli de Fátima Stradioto Papa

ABSTRACT

Since 2001, the incidence of *Corynespora cassiicola* and *Colletotrichum gloeosporioides* has been reported, causing leaf spots and early leaf drops in Junqueirópolis, which is the major acerola production area in São Paulo state. It is extremely difficult to implement disease control strategies in acerola due to the non existence of labeled fungicides for the crop and concernings about fungicide residues in fruits and fruit pulp, products with short time are required. The current research aimed to evaluated the fungitoxicity of Chitosan, Acibenzolar-S-methyl, Ecolife⁴⁰, Trilogy, Borda Ferti, Nutri-phite and five fungicides for *C. cassiicola* and *C. gloeosporioides*, and assess the induction of resistance in acerola plant against *C. cassiicola* by using Chitosan, Acibenzolar-S-methyl applied separately or in mixture with fungicides Benomyl, Mancozeb or Tebuconazole. *In vitro* trials were conducted to determine spores germination and mycelial growth in liquid and solid medium, and *in vivo* trials were accomplished with inoculations at zero, three and five days after application of the products and number and diameter of lesions were determined. Chitosan, Acibenzolar-S-methyl, Trilogy and Nutri-phite showed low fungitoxic activity for *C. cassiicola* and *C. gloeosporioides*. Ecolife⁴⁰ totally inhibited spores germination of two the fungal species and proportioned above 75 and 90% mycelial growth inhibition in solid and liquid medium, respectively for *C. gloeosporioides* and *C. cassiicola*. Borda Ferti, Mancozeb, Cupper



Oxichloride and Tebuconazole inhibited proportioned more than 85% of spores germination for *C. gloeosporioides* and *C. cassiicola*. Acibenzolar-S-methyl showed reasonable efficiency for induction of resistance in acerola against *C. cassiicola*, reducing in 47% the number of lesions and 27% the diameter of lesions for the five-day interval between application and inoculation. Chitosan solutions showed grater inhibition on the development of the disease, from the three-day interval between application of the products and inoculation with *C. cassiicola*. The mixture of Acibenzolar-S-methyl with Tebuconazole, were the only one that showed significant difference between inoculation times, with higher reduction effect on number and size of lesions for the five-day interval, suggesting a response from inductor added to fungicide activity.

1. REVISÃO DE LITERATURA	5
1.1. Antracnose e mancha alva em acerola	5
1.2. Fungos fitopatógenos	9
1.3. Tipos de respostas de resistência de plantas	11
1.3.1. Quimica	11
1.3.2. Acibenzolar-S-methyl	12
1.3.3. Elicitos ²⁰	18
1.3.4. Borda Peru, Natis-plus e Trilogy como potenciais indutores de resistência de plantas	18
1.4. Controle com fungicidas	19
2. MATERIAL E MÉTODOS	23
2.1. Material	23
2.2. Métodos	24
2.2.1. Escova de fibra	24
2.2.2. Escova de vidro	28



SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS	4
3. REVISÃO DE LITERATURA	5
3.1. Antracnose e mancha alvo em acerola:	5
3.2. Indução de resistência	9
3.3. Uso de indutores de resistência de plantas	11
3.3.1. Quitosana	11
3.3.2. Acibenzolar-S-methyl.....	13
3.3.3. Ecolife ⁴⁰	16
3.3.4. Borda Ferti, Nutri-phite e Trilogy como potenciais indutores de resistência de plantas	18
3.4. Controle com fungicidas	19
4. MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1. Material	23
4.2. Métodos	23
4.2.1. Ensaios <i>in vitro</i>	23
4.2.2. Ensaios <i>in vivo</i>	28



4.3. Análise estatística.....	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
5.1. Efeito de indutores de resistência de plantas e fungicidas no crescimento micelial de <i>C. gloeosporioides</i> e de <i>C. cassiicola</i> , incorporados em meio de cultura sólido	30
5.2. Efeito de indutores de resistência de plantas e fungicidas no crescimento micelial de <i>C. gloeosporioides</i> e de <i>C. cassiicola</i> , incorporados em meio de cultura líquido.....	46
5.3. Efeito de indutores de resistência de plantas e fungicidas na inibição da germinação de esporos de <i>C. gloeosporioides</i> e <i>C. cassiicola</i>	56
5.4. Efeito de indutores de resistência de plantas e fungicidas na indução de resistência da acerola a <i>C. cassiicola</i>	63
6. CONSIDERAÇÕES GERAIS	69
7. CONCLUSÕES.....	71
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72



LISTA DE TABELAS

Tabela	pg.
1. Relação dos produtos utilizados nas avaliações.....	25
2. Efeito de produtos indutores de resistência de plantas e fungicidas na inibição do crescimento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e de <i>Corynespora cassiicola</i> em meio sólido <i>in vitro</i> . Ilha Solteira-SP, 2004.....	31
3. Equações de regressão linear, concentração efetiva (EC ₅₀) para inibição de 50% do crescimento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> . Ilha Solteira-SP, 2004.....	35
4. Equações de regressão linear, concentração efetiva (EC ₅₀) para inibição de 50% do crescimento micelial de <i>Corynespora cassiicola</i> . Ilha Solteira-SP, 2004.....	36
5. Efeito de produtos indutores de resistência de plantas e fungicidas na inibição do crescimento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e de <i>Corynespora cassiicola</i> em meio líquido <i>in vitro</i> . Ilha Solteira-SP, 2004.....	47
6. Efeito de produtos indutores de resistência de plantas e fungicidas na germinação de esporos de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e <i>Corynespora cassiicola</i> <i>in vitro</i> . Ilha Solteira-SP, 2004.....	57
7. Equações de regressão linear e dose letal (DL ₅₀) para inibição de 50% da germinação de esporos de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e <i>Corynespora cassiicola</i> . Ilha Solteira-SP, 2004.....	60
8. Número de lesões de <i>Corynespora cassiicola</i> desenvolvido em folha de acerola, inoculadas aos 0, 3 e 5 dias após o tratamento com os indutores de resistência e/ou fungicidas. Plantas mantidas em casa de vegetação. Ilha Solteira-SP, 2004.....	64
9. Diâmetro de lesões (mm) de <i>Corynespora cassiicola</i> desenvolvidas em folhas de acerola, inoculadas aos 0, 3 e 5 dias após o tratamento com os indutores de resistência e/ou fungicidas. Plantas mantidas em casa de vegetação. Ilha Solteira-SP, 2004.....	67

LISTA DE FIGURAS

Figura	pg.
1. Sintomas da antracnose, causada por <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , em folha de acerola.....	7
2. Sintomas causados por <i>Corynespora cassiicola</i> em folha de acerola.....	8
3. Efeito de fungicidas na concentração de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ no crescimento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (A) e <i>Corynespora cassiicola</i> (B). Ilha Solteira-SP, 2004.....	32
4. Efeito de Ecolife ⁴⁰ no crescimento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (A) e <i>Corynespora cassiicola</i> (B). Ilha Solteira-SP, 2004.....	32
5. Inibição do crescimento micelial (%) de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e de <i>Corynespora cassiicola</i> em meio sólido de BDA, e doses do bioestimulante Ecolife ⁴⁰ . Ilha Solteira-SP, 2004.....	38
6. Efeito de Acibenzolar-S-methyl no crescimento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (A) e <i>Corynespora cassiicola</i> (B). Ilha Solteira-SP, 2004.....	38
7. Inibição do crescimento micelial (%) de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e <i>Corynespora cassiicola</i> , em meio sólido de BDA e doses do indutor de resistência Acibenzolar-S-methyl. Ilha Solteira-SP, 2004.....	39
8. Efeito de soluções de Quitosana incorporada em BDA no crescimento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (A) e <i>Corynespora cassiicola</i> (B). Ilha Solteira-SP, 2004.....	40
9. Inibição do crescimento micelial (%) de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e de <i>Corynespora cassiicola</i> , em meio sólido de BDA e doses de Quitosana. Ilha Solteira-SP, 2004.....	41
10. Efeito do Trilogy no crescimento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (A) e <i>Corynespora cassiicola</i> (B) incorporado em BDA. Ilha Solteira-SP, 2004.....	41
11. Efeito do Nutri-phite no crescimento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (A) e <i>Corynespora cassiicola</i> (B) incorporado em BDA. Ilha Solteira-SP, 2004.....	42

12. Inibição do crescimento micelial (%) de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e de <i>Corynespora cassiicola</i> , em meio sólido de BDA e doses de Trilogy. Ilha Solteira-SP, 2004.....	43
13. Inibição do crescimento micelial (%) de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e de <i>Corynespora cassiicola</i> , em meio sólido de BDA e doses de Nutri-phite. Ilha Solteira-SP, 2004.....	43
14. Efeito da Borda Ferti no crescimento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (A) e <i>Corynespora cassiicola</i> (B) incorporado em BDA. Ilha Solteira-SP, 2004.....	44
15. Inibição do crescimento micelial (%) de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e de <i>Corynespora cassiicola</i> , em meio sólido de BDA e doses de Borda Ferti. Ilha Solteira-SP, 2004.....	45
16. Inibição do crescimento micelial (%) de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e <i>Corynespora cassiicola</i> , em meio líquido, e doses do indutor de resistência Acibenzolar-S-methyl. Ilha Solteira-SP, 2004.....	48
17. Efeito de Acibenzolar-S-methyl e Quitosana no crescimento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> em meio líquido. Ilha Solteira-SP, 2004.....	48
18. Efeito de Acibenzolar-S-methyl e Quitosana no crescimento micelial de <i>Corynespora cassiicola</i> em meio líquido. Ilha Solteira-SP, 2004.....	49
19. Inibição do crescimento micelial (%) de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e <i>Corynespora cassiicola</i> , em meio líquido, e doses do bioestimulante Ecolife ⁴⁰ . Ilha Solteira-SP, 2004.....	50
20. Efeito de Ecolife ⁴⁰ no crescimento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (A) e <i>Corynespora cassiicola</i> (B) em meio líquido. Ilha Solteira-SP, 2004.....	51
21. Efeito de Trilogy no crescimento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (A) e <i>Corynespora cassiicola</i> (B) em meio líquido. Ilha Solteira-SP, 2004.....	52
22. Efeito de Nutri-phite no crescimento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (A) e <i>Corynespora cassiicola</i> (B) em meio líquido. Ilha Solteira-SP, 2004.....	52
23. Inibição do crescimento micelial (%) de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e <i>Corynespora cassiicola</i> , em meio líquido, e doses de Trilogy. Ilha Solteira-SP, 2004.....	53
24. Inibição do crescimento micelial (%) de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e <i>Corynespora cassiicola</i> , em meio líquido, e doses de Nutri-phite. Ilha Solteira-SP, 2004.....	54



25. Inibição do crescimento micelial (%) de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e <i>Corynespora cassiicola</i>, em meio líquido, e doses de Borda Ferti. Ilha Solteira-SP, 2004.....	55
26. Efeito de Borda Ferti no crescimento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (A) e <i>Corynespora cassiicola</i> (B) em meio líquido. Ilha Solteira-SP, 2004.....	55
27. Inibição da germinação de esporos (%) de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e <i>Corynespora cassiicola</i>, e doses do indutor de resistência Acibenzolar-S-methyl. Ilha Solteira-SP, 2004.....	58
28. Inibição da germinação de esporos (%) de <i>Corynespora cassiicola</i>, e doses do bioestimulante Ecolife⁴⁰. Ilha Solteira-SP, 2004.....	59
29. Inibição da germinação de esporos (%) de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e <i>Corynespora cassiicola</i>, e doses de Trilogy. Ilha Solteira-SP, 2004.....	61
30. Inibição da germinação de esporos (%) de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e <i>Corynespora cassiicola</i>, e doses de Nutri-phite. Ilha Solteira-SP, 2004.....	62



1. INTRODUÇÃO

A acerola ou cereja-das-antilhas (*Malpighia emarginata* D.C.) pertence à família Malpighiaceae, conhecida mundialmente pelo alto conteúdo em vitamina C nos frutos, que pode atingir até 4000 mg/100 g de polpa (BARBOZA et al. 1996, 42p.). Outra característica desta planta é sua adaptabilidade a fatores climáticos diversos.

O plantio comercial da acerola teve início em 1946 em Porto Rico, por ocasião da descoberta de altos teores de vitamina C em seus frutos (BARBOZA et al. 1996, 42p.). No Brasil, a acerola foi introduzida na década de 50, mas somente após o início dos anos 80, a cultura apresentou expansão na área cultivada, marcando o início da fase de exportação de frutos (FREIRE, 1995, p.71-76). Em 1991, o Brasil foi o principal exportador de acerola (BENSIMON, 1991, p.9-10), e ainda segundo Araújo e Minami (1994, 81p.) é considerado o maior produtor e consumidor de acerola do mundo.

No nordeste brasileiro e em algumas localidades do interior paulista, muitos hectares já estão com suas acerolas produzindo para suprir a demanda do mercado externo, em franca expansão, isto porque seus frutos geram inúmeros produtos como: geléias, marmeladas, compotas, licores e refrescos. Sua polpa é largamente utilizada no enriquecimento vitamínico do suco de outras frutas, além de que a acerola encaixa-se perfeitamente na tendência mundial, iniciada na década de 80, da procura por produtos naturalmente saudáveis.

A área de cultivo da acerola no Brasil ultrapassa sete mil hectares, com produção anual de 150 mil toneladas (OLIVEIRA et al. 1998, 35p.), distribuindo-se em regiões distintas: Nordeste (Pernambuco, Ceará, Bahia, Sergipe, Alagoas, Paraíba, Rio Grande do Norte); Norte (Pará); Sul (Paraná) e Sudeste (São Paulo).



Segundo Konrad (2002, 119p.), o município de Junqueirópolis é o maior produtor de acerola do Estado de São Paulo, sendo cultivados cerca de 100.000 pés de acerola, com produção na safra 2002/2003 de aproximadamente de 3.000 toneladas. Em condições de altas temperaturas e umidade do solo, a cultura tem potencial para produzir o ano todo, o problema é que esta característica de clima associada às grandes áreas de cultivo é favorável a maior incidência de doenças, principalmente causadas por fungos.

Em estudos realizados por Konrad (2002, 119p.) na região da Nova Alta Paulista no Município de Junqueirópolis, constatou-se a incidência de duas manchas foliares: a antracnose causada por *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. (Penz. & Sacc.) e a mancha alvo, tendo como agente causal *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt.) Wei. O autor constatou desfolha das plantas, no período de março a junho de 2001, reduzindo o número de folhas de 71,3 para 26,7 por ramo.

A antracnose constitui-se na mais difundida enfermidade da acerola no Brasil, tendo sido relatada em regiões produtoras nos Estados da Paraíba (ALMEIDA et al. 2003, p.176-179), do Pará (TRINDADE et al. 1993, p.280), do Piauí (ATHAYDE SOBRINHO, 1997, p.245) e no interior do Estado de São Paulo (KONRAD, 2002, 119p.). Esta doença ocorre com maior intensidade no período chuvoso, afetando folhas, ramos e frutos. Nas folhas os sintomas são caracterizados pela formação de manchas esbranquiçadas com um estreito halo marrom circundando a área necrosada, tanto em mudas quanto em plantas adultas. Com o progresso da doença, na frutificação da planta, causa nos frutos manchas pequenas e enegrecidas, as quais podem coalescer aumentando a área necrosada, e acaba inviabilizando o aproveitamento destes (FREIRE, 1995, p.71-76).

A mancha alvo foi relatada pela primeira vez na acerola em 1996, no Estado do Maranhão (DA SILVA et al. 1997, p.452), e a partir de 2001 vem causando prejuízos no interior do Estado de São Paulo (KONRAD, 2002, 119p.). *C. cassiicola* é um fungo



cosmopolita e abundante nos trópicos, sendo relatado em soja (ALMEIDA et al. 1976, p.111-112), mamão (RUSSOMANO et al. 1998, p.245), hortência (LEITE e BARRETO, 1997, p.276), tomate (LEROY e LOURD, 1989, p.32-36) e seringueira (GASPAROTTO et al. 1988, p.272-280). Os sintomas característicos da mancha alvo são inicialmente pequenos pontos necróticos circundados por um halo amarelo, medindo de 1-2 mm de diâmetro. Com o desenvolvimento da doença tornam-se manchas irregulares e algumas vezes circulares, de 0,5 a 1,4 cm, deprimidas e secas, com o centro claro e bordos de coloração marrom escuro.

O controle destes fitopatógenos tem sido difícil por não existirem produtos registrados para a cultura da acerola (WIN FIT, 2000) e por boa parte da produção ser destinada para mercados externos, exigentes quanto a resíduos de agrotóxicos (KONRAD, 2002, 119p.). Associa-se a isto que na acerola o período entre a floração e a frutificação é relativamente curto, ao redor de 22 dias, sendo realizadas duas a três colheitas por semana, durante oito meses do ano. Diante disso, os fungicidas a serem utilizados devem apresentar período residual curto.



2. OBJETIVOS

- Estimar a capacidade antifúngica *in vitro* de Acibenzolar-S-methyl, Borda Ferti, Ecolife⁴⁰, Nutri-phite, Quitosana, Trilogy e fungicidas por meio das inibições do crescimento micelial e da germinação dos esporos de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Corynespora cassiicola*;
- Avaliar a indução de resistência de plantas de acerola a *Corynespora cassiicola*, sob condições de casa de vegetação, pela aplicação de Quitosana ou Acibenzolar-S-methyl isoladamente ou em mistura com os fungicidas Benomyl, Mancozeb e Tebuconazole.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Antracnose e mancha alvo em acerola:

Em estudos realizados na região da Nova Alta Paulista no Município de Junqueirópolis, constatou-se a incidência de duas lesões foliares: a antracnose (*C. gloeosporioides*) e mancha alvo (*C. cassicola*), que provocaram queda de folhas, intensificadas no mês de março de 2001, onde os ramos estavam com média de 71,3 folhas, diminuindo para 26,7 folhas/ramo em junho de 2001 (KONRAD, 2002, 119p.).

A antracnose (*C. gloeosporioides*) constitui-se na mais difundida enfermidade da acerola no Brasil (ALVES et al. 1995, p.77-89; JUNQUEIRA, 2003, 397p.) afetando folhas, ramos e frutos. É caracterizada pela formação de manchas esbranquiçadas com um estreito halo marrom circundando a área necrosada (Figura 1), tanto em mudas quanto em plantas adultas. Com o progresso da doença, na frutificação da planta, causa nos frutos manchas pequenas e enegrecidas, as quais podem coalescer aumentando a área necrosada, e acabam inviabilizando o aproveitamento destes (FREIRE, 1995, p.71-76). Junqueira et al. (1996, p.387) observaram em períodos com intensa precipitação no Cerrado e no Estado de Minas Gerais, manchas escuras em botões florais da acerola, ocasionadas por *C. gloeosporioides*, os mesmos autores ainda descrevem, que os sintomas em frutos verdes iniciam como pequenas lesões esbranquiçadas ou marrons-claras, as quais tornam se profundas, aumentam de tamanho e escurecem com a maturação do fruto.

No Brasil a antracnose já foi relatada nas regiões produtoras de acerola dos Estados da Paraíba (ALMEIDA et al. 1998, 24p.), Pará (TRINDADE et al. 1993, p.280), Piauí



(ATHAYDE SOBRINHO, 1997, p.245) e no interior do Estado de São Paulo (KONRAD, 2002, 119p.). A enfermidade se manifesta com maior intensidade no período chuvoso, de forma muito severa atacando a maioria das plantas cultivadas, leva a perdas e constitui-se em obstáculo à expansão da cultura. Almeida et al. (2003, p.176-179) ao realizarem diagnóstico e quantificação de doenças fúngicas da acerola no Estado da Paraíba, observaram que em microrregiões do Brejo e Litoral, onde foram registradas precipitações mais elevadas acompanhadas de temperaturas baixas, houve maior incidência da antracnose, confirmando o favorecimento da doença pela ocorrência de determinada condição ambiental.

A antracnose é classificada como uma das mais importantes doenças que ocorre no Brasil, por afetar uma ampla faixa de hospedeiros, sendo relatada para muitas espécies frutíferas como goiabeira (BONETI et al. 2000, p.360), mamoeiro (LADEIRA et al. 2000, p.384), cajueiro (MENEZES, 1997, p.201-206), mangueira (CUNHA et al. 1995, p.47-50), também em ornamentais como *Dracena fragrans* (VIEIRA e BARRETO, 2000, p.433) e antúrio (*Anthurium andraeanum* Lind.) (MARINI e BARRETO, 2000, p.391). O agente causal, *C. gloeosporioides*, produz esporos (conídios) hialinos, uninucleados e arredondados, os quais são liberados dos acérvulos com auxílio de água e dispersos por respingos de chuva e/ou irrigação e vento. Os conídios são produzidos em maior quantidade em períodos de alta umidade relativa do ar, ou água livre, em uma faixa de temperatura que varia de 10 a 30 °C, sendo ideal acima de 25 °C (KIMATI et al. 1997, 919p.).

C. gloeosporioides sobrevive geralmente como saprófita no tecido morto, restos culturais e também no interior de lesões velhas no caso da antracnose da mangueira e videira. Os conídios de *C. gloeosporioides* germinam entre períodos de 6 a 48 horas após a inoculação, e durante a penetração formam uma região não melanizada da parede denominada poro de penetração, dissolvendo a parede e formando um colarinho ao redor do poro de penetração, facilitando o processo (LOPEZ, 1997, p.79-84).





Figura 1. Sintomas da antracnose, causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, em folha de acerola.

Outra doença que afeta a acerola é a mancha alvo causada por *C. cassicola*, a qual foi relatada pela primeira vez, no ano de 1996, no Estado do Maranhão (DA SILVA et al. 1997, p.452), e atualmente vem causando prejuízos no interior do Estado de São Paulo (KONRAD, 2002, 119p.).

A mancha alvo também é encontrada em áreas de cultivo da soja, causando desfolha antecipada e redução do rendimento (UTIAMADA et al. 1998, p.289). A partir 1998 foi relatada sua ocorrência em frutos de mamão provenientes do Estado da Bahia (RUSSOMANNO et al. 1998, p.245). *C. cassicola* também é relatado como patógeno de plantas ornamentais como poinsettia (*Euphorbia pulcherrima*) (RUSSOMANNO et al. 1998, p.245), e hortênsia (*Hydrangea* sp.) (LEITE e BARRETO, 1997, p.276), atacando folhas e flores, de plantas daninhas *Lantana camara* (PEREIRA e BARRETO, 1998, p.268), trapoeraba (*Commelina benghalensis* L.) e assa peixe (*Vernonia cinerea* L.), e ainda em olerícolas como tomateiro, quiabeiro e pimentão (CUTRIM e SILVA, 2003, p.193-194).

A mancha alvo (*C. cassicola*) ocorre com maior intensidade no período chuvoso, por caracterizar uma época em que o patógeno encontra condições de temperatura e umidade favoráveis ao seu desenvolvimento, sendo considerada uma doença cosmopolita e abundante

nos trópicos (ALMEIDA et al. 1976, p.111-112). *C. cassicola* já foi relatada para muitas plantas cultivadas, porém destaca-se para essências florestais, tomateiro, seringueira e cacaueteiro (JUNQUEIRA, 2003, 397p.).

Os sintomas característicos da mancha alva em acerola são inicialmente pequenos pontos necróticos circundados por um halo amarelo medindo de 1-2 mm de diâmetro. Com o desenvolvimento da doença tornam-se manchas irregulares e algumas vezes circulares, de 0,5 a 1,4 cm deprimidas e secas, com o centro claro e bordas de coloração marrom escuro (Figura 2) e halo clorótico. *C. cassicola* apresentou maior crescimento micelial e esporulação *in vitro*, quando mantido em meio batata-dextrose-agar + biotina, sob fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25 °C (RODRIGUES et al. 2004, p.122).



Figura 2. Sintomas causados por *Corynespora cassicola* em folha de acerola.

C. cassicola sobrevive em restos vegetais por até 10 meses ou em plantas infectadas, sendo considerado um fungo polífago de ampla distribuição geográfica em regiões tropicais (DA SILVA et al. 1997, p.452), e assim como a antracnose (*C. gloeosporioides*) a julgar pela forma que vem se manifestando, principalmente na época chuvosa, constituem-se um sério problema para o cultivo da acerola.

Em razão do aparecimento de doenças, nos últimos anos o volume de exportações, a maioria para o Japão, tem sido reduzida, afetando a economia das regiões produtoras (KONRAD, 2002, 119p.). Tal fato ocorre não apenas pela decomposição causada no fruto, mas também pela dificuldade em fazer o controle porque a planta de acerola produz o ano inteiro, impedindo que se façam pulverizações já que o período que vai da antese floral à colheita é de 21 dias, e não há tolerância de resíduos nos frutos para exportação (TRINDADE et al. 1993, p.280).

3.2. Indução de resistência

Para aprimorar seu valor comercial e atender às exigências do mercado consumidor, os produtos agropecuários necessitam de uma série de tratamentos, visando, principalmente, ao controle de fungos que ocorrem em pré e pós-colheita. Para evitar os problemas relacionados às doenças, são realizadas imersões ou pulverizações das plantas e frutos com fungicidas. A longo prazo, esta atividade pode levar ao surgimento de isolados dos patógenos resistentes a esses produtos e trazer efeitos negativos para a sociedade como um todo e ao meio ambiente, devido a poluição e a potencial intoxicação causada pelos resíduos. Neste contexto, termos como controle alternativo de doenças de plantas, o qual inclui o controle biológico e a indução de resistência em plantas (BETTIOL, 1991, 388p.) vêm sendo empregados dentro do sistema de manejo de doenças de plantas.

O controle biológico pode ser definido como o controle de um microrganismo através da ação direta de outro microrganismo antagônico (COOK e BAKER, 1983, 539p.). Já a indução de resistência, que se encontra sob o escopo deste projeto, envolve a ativação de mecanismos de defesa latentes existentes nas plantas em resposta ao tratamento com agentes bióticos ou abióticos. Moléculas de origem biótica ou abiótica capazes de ativar/induzir qualquer resposta de defesa nas plantas são chamadas de eliciadores (SMITH, 1996, p.1-45).



Entre as respostas de defesa ativadas na planta podem ser encontradas as de natureza estrutural (papilas, halos, lignificação, camadas de cortiça e tilose) e as de natureza bioquímica (fitoalexinas e proteínas relacionadas à patogênese, como as β -1,3 glucanases e quitinases) (PASCHOLATI e LEITE, 1995, p.417-454). As fitoalexinas constituem-se em umas das mais poderosas armas dos vegetais contra fitopatógenos. São metabólitos secundários, antimicrobianos de baixo peso molecular e produzidos pelas plantas em resposta a estresses físicos, químicos e biológicos. As fitoalexinas são capazes de impedir ou reduzir a atividade de agentes patogênicos, sendo seu acúmulo dependente dos genótipos do hospedeiro e/ou patógeno (PURKAYASTHA, 1995, p.1-39).

Todos os mecanismos acima mencionados podem atuar de maneira coordenada e sincrônica, após a ativação ou indução por um eliciador, conduzindo à supressão ou à redução do desenvolvimento do patógeno no hospedeiro. A resistência induzida é dependente de um intervalo de tempo entre o tratamento com o indutor e a subsequente inoculação do patógeno (tratamento desafiador), indicando que mudanças específicas no metabolismo da planta que envolvam a síntese e/ou acúmulo de substâncias são importantes no fenômeno da resistência induzida (PASCHOLATI e LEITE, 1995, p.417-454).

A indução de resistência têm sido verificada em diversas plantas, incluindo dicotiledôneas e monocotiledôneas (SCHENEIDER et al. 1996, p.303-340), indicando que a “imunização” de plantas mostra-se como uma estratégia potencial para o controle de fitopatógenos. Numa visão geral do processo de resistência sistêmica induzida, o fenômeno pode ser comparado com a imunização de seres humanos e animais buscando a proteção contra doenças, ainda que os mecanismos sejam totalmente diferentes em sua natureza. (ROMEIRO, 1999, 45p.)

3.3. Uso de indutores de resistência de plantas

3.3.1. Quitosana

A quitina é um biopolímero encontrado em invertebrados marinhos, insetos, artrópodes, fungos e leveduras (GRACÉN e GRACÉN, 1996, p.67-71). Quitina, palavra grega que significa revestimento protetor é extraída das carapaças de crustáceos como camarão, siris, lagostas e outros, sendo a segunda maior fonte de biomassa de polissacarídeos. Estima-se que mais de um bilhão de toneladas são produzidas anualmente, principalmente por animais marinhos, devido o seu tempo de vida curto e enorme capacidade de regeneração (MATHUR e NARANG, 1990, p.938-942; GRACÉN e GRACÉN, 1996, p.67-71).

A Quitosana é um polímero de β -1,4 glucosamina não tóxico ao homem, obtida a partir da desacetilação parcial da quitina em soluções alcalinas concentradas para gerar mais de 70% de grupos amino livres. Apresenta características importantes tais como: biocompatibilidade, hidrofilidade, biodegradabilidade, propriedades antibactericidas e bioatividade (KAWAMURA et al. 1993, p.386-391; GRACÉN e GRACÉN, 1996, p.67-71).

A Quitosana tem sido produzida comercialmente, e devido suas características e disponibilidade, pode ser potencialmente usada em diversas áreas tais como: matriz polimérica para a liberação controlada de diversos fungicidas (drogas, pesticidas e nutrientes) através de sua característica de biodegradabilidade (CHÁVEZ, 2002); no tratamento de água e efluentes líquidos industriais, por possuir em sua estrutura o grupo amino, que lhe confere grande capacidade para coagular substâncias coloidais, e como agente floculante (GONÇALVES JR., 2002, 120p.).

Na biotecnologia, a Quitosana tem sido usada como matriz de imobilização de células, enzimas e fracionamento e/ou purificação de bioprodutos, também pode ser conformada nas mais diversas formas para aplicação: solução, géis e membranas densas e porosas, sólidos,



etc. (GONÇALVES JR., 2002, 120p.), sendo também aplicada no uso medicinal e farmacêutico por possuir fibras biocompatíveis que não produzem reações alérgicas, além de propriedades curativas aplicadas como: acelerador de cicatrização, na dermatologia, agentes antiparasitários e bacteriológicos e anticoagulante de sangue (MATHUR e NARANG, 1990, p.938-942; GRACÉN e GRACÉN, 1996, p.67-71).

Na indústria alimentar é empregada na prevenção da turgidez e como conservante de sucos de frutas, e utilizada em grande escala no controle da obesidade, por reduzir os níveis de colesterol, dentre outras aplicações como na indústria de cosméticos e têxtil (MATHUR e NARANG, 1990, p.938-942; GRACÉN e GRACÉN, 1996, p.67-71).

Na agricultura existem muitos estudos relacionados à sua aplicação, dentre esses pode-se citar que, a natureza policatiônica da Quitosana confere à mesma inúmeras funções físico-químicas e biológicas, podendo inibir diversos fungos fitopatogênicos como *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:fr) Vuill. em pós-colheita (EL GHOUTH et al. 1992a, p.769-779; EL GHOUTH et al. 1992b, p.398-402; EL GHOUTH et al. 1992c, p.173-177), *Colletotrichum musae* (Berk. & Curtis) Arx em pós-colheita de frutos da banana (CARRE et al. 2002b, p.91) e também vários patógenos veiculados pelo solo tais como *Fusarium oxysporum* (Schlecht) Snyd & Hans (KENDRA et al. 1989, p.215-230; BENHAMOU, 1992, p.1185-1193), *Rhizoctonia solani* Kuhn. (STOSSEL e LEUBA, 1984, p.82-90) e *Pythium aphanidermatum* (Eds.) Fitzp. (EL GHOUTH, et al. 1994, p.313-320).

A Quitosana também pode induzir processos biológicos nos tecidos vegetais que podem conduzir à ativação dos mecanismos de defesa da planta e contribuir, dessa forma, para a restrição do desenvolvimento do patógeno ou a colonização fúngica (PEARCE e RIDE, 1982, p.119-123). Wilson et al. (1994, p.837-844) observaram essa característica indutora da Quitosana, através de estudos que demonstraram a indução de resistência nos tecidos internos

da planta contra *Botrytis cinera* Pers. & F. em pós-colheita, bem como alguma atividade fungistática *in vitro* contra o mesmo patógeno.

3.3.2. Acibenzolar-S-methyl

Indutores de resistência de plantas estão surgindo atualmente como uma nova alternativa no controle de doenças. O Acibenzolar-S-methyl (ASM) é considerado um ativador de resistência sistêmica adquirida (SAR), ou indutor de resistência de plantas. Foi desenvolvido na década de 90, pertence ao grupo P na classificação do FRAC – *Fungicide Resistance Action Committee* no grupo químico dos indutores de defesa do hospedeiro (VENANCIO et al. 2000, p.59-92), e é até 2004 o único indutor de SAR liberado para o uso comercial no Brasil.

O Acibenzolar-S-methyl é rapidamente absorvido e translocado na planta, sendo altamente sistêmico e transportado através do floema e do xilema, de maneira a atingir toda a planta, proporcionando que fluxos de crescimento sejam ativados. Atua na planta induzindo a resistência sistêmica adquirida, tomando o lugar do ácido salicílico, o qual também por uma infecção natural ativaria os mecanismos de defesa da planta, mas de forma mais lenta, não evitando com efetividade o dano inicial causado pelo patógeno (BION, 2001, 20p.). Desta maneira a resistência induzida pelo Acibenzolar-S-methyl mostra-se como uma promissora ferramenta adicional no manejo integrado de doenças das culturas.

Em relação a aspectos biológicos que ocorrem pela aplicação de Acibenzolar-S-methyl, é que ao ativar o sistema de defesa à infecção é evitada naturalmente pela formação de um espessamento localizado na parede celular, a papila, que forma uma barreira à penetração da hifa, evitando que este retire nutrientes da planta e levando a morte do fungo por inanição (BION, 2001, 20p.). A respeito de aspectos bioquímicos que ocorrem no processo de ativação de defesa, estudos com plantas de fumo comprovam que a resposta de

SAR está correlacionada com o acúmulo de PR-proteínas, protegendo as plantas (VENANCIO et al. 2000, p.59-92).

O Acibenzolar-S-methyl vem sendo testado em diferentes culturas como: na cenoura indicando que pulverizações realizadas sete dias antes da colheita protegem as raízes contra a podridão mole (SILVA, 2002, p.69), em tomate (BION, 2001, 20p.), em plantas de pêssego e de trigo comprovando que a persistência de fungicidas protetores foi aumentada pela adição de Acibenzolar-S-methyl (VENANCIO et al. 2000, p.59-92). Silva et al. (2003, p.244-248) ao avaliarem o efeito do indutor na proteção contra *Xanthomonas vesicatoria* (Doidge) (mancha bacteriana), *Oidium lycopersici* Cooke & Mass (Oídio) e *Septoria lycopersici* Speg. (septoriose) em tomateiro, observaram reduções significativas no índice de severidade da mancha bacteriana e oídio, nos tratamentos com ASM isoladamente, e para o controle da septoriose, o melhor tratamento foi aquele contendo ASM + mancozeb, demonstrando que a resistência induzida por Acibenzolar-S-methyl apresenta um amplo espectro de proteção.

A característica de amplo espectro de proteção na resistência induzida por Acibenzolar-S-methyl é evidenciada em diversos estudos, principalmente com espécies olerícolas, onde o mesmo vem sendo aplicado com sucesso, como nos estudos de Silva et al. (2001, p.295). Os autores avaliaram a proteção contra *Ralstonia solanacearum* em tomateiro, e observaram que ASM promoveu reduções significativas na incidência e severidade da doença independente do modo de aplicação do produto. Ainda estudos realizados por Buonauro et al. (2002, p.41-49) demonstraram a eficácia do produto na redução da incidência de mancha bacteriana em plantas de pimenta. Também observaram que o produto apresentou capacidade de persistência de até cinco dias após a realização do tratamento. Anfoka (2000, p.401-405) comprovou a eficácia de Acibenzolar-S-methyl na redução da incidência e severidade do vírus do mosaico do pepino (*Cucumber mosaic virus*, CMV) em tomateiro.



O efeito de Acibenzolar-S-methyl contra doenças vem apresentando resultados significativos para outras culturas além das olerícolas. Rodrigues et al. (2000, p.247) avaliaram o efeito de ASM sobre a ferrugem do feijoeiro, e constataram redução de aproximadamente 45% na severidade da doença, em plantas tratadas com o produto. Soares et al. (2000, p.332) comprovaram a eficiência do produto com reduções significativas (23 a 71%) na percentagem de folhas com sintomas de mancha bacteriana em plantas de maracujazeiro. A atividade de ASM também foi avaliada em frutíferas como o mamão, contra a antracnose em pós-colheita, reduzindo em 50% a severidade da doença (CIA et al. 2004, p.100). Para cacauieiro contra *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer (AGUILAR et al. 1998, p.220) e *Verticillium dahliae* Kleb (CAVALCANTI e RESENDE, 2000, p.458), demonstrando efetividade do produto para os dois fitopatógenos.

Avaliações com Acibenzolar-S-methyl realizadas *in vitro* evidenciam a presença de alguma ação fungistática do produto, porém foi considerada baixa. Estudos realizados por Resende et al. (2000, p.149-156), baseados em valores de EC_{50} (concentração efetiva para inibição de 50 % do crescimento micelial) estimados em $347,19 \mu\text{g mL}^{-1}$ para Acibenzolar-S-methyl, classificaram o mesmo como um produto químico de pouca ação fungitóxica para a germinação e crescimento micelial de *Crinipellis perniciosa*. Segundo estes autores na classificação dos níveis de toxidez para fungos proposta por Edgington et al. (1971, p.42-44), compostos com $EC_{50} > 50 \mu\text{g mL}^{-1}$ podem ser considerados como pouco fungitóxicos. Cardoso Filho (2003, 126p.) também observou baixa ação fungistática de ASM contra *Phyllosticta citricarpa* (McAlp) van der A. A., sugerindo que ação do produto seja mesmo a de indutor de resistência da planta.



3.3.3. Ecolife⁴⁰

Considerado como um revigorante e anti-estresse para plantas, o Ecolife⁴⁰ é descrito apresentando ação sinérgica, e desta maneira melhora o vigor e a resistência das plantas às doenças. É considerado um produto não tóxico ao homem, composto por ingredientes de origem natural, os bioflavanóides cítricos (vitamina P), fitoalexinas cítricas, ácido ascórbico (vitamina C), ácido cítrico e ácido láctico, podendo ser recomendado para o cultivo orgânico, principalmente em pós-colheita, prolongando a vida útil de frutas e hortaliças (ECOLIFE⁴⁰, 2003, 19p.).

As ações de Ecolife⁴⁰ são comandadas pelos bioflavanóides cítricos (vitamina P), fitoalexinas cítricas e ácido ascórbico (vitamina C), sendo que os ácidos orgânicos (ascórbico, cítrico e láctico) e os bioflavanóides conferem ao produto uma ação antioxidante, e juntamente com os peptídeos atuam como microbiostáticos, auxiliando no equilíbrio da bioflora vegetal. Na indução de resistência de planta está envolvida a ativação de mecanismos de defesa latentes existentes nas plantas em resposta ao tratamento com agentes bióticos ou abióticos, as fitoalexinas são consideradas agentes latentes antimicrobianos, as quais podem ser induzidas por substâncias (abióticas) chamadas eliciadoras. Dentre os elicitores orgânicos capazes de induzir a produção de fitoalexinas, podem-se citar o ácido ascórbico e os bioflavanóides, encontrados na composição do Ecolife⁴⁰, conferindo ao produto a ação de indutor de resistência de planta.

A capacidade de indutor de resistência foi verificada no Ecolife⁴⁰ em estudos realizados por Motoyama et al. (2002a, p.103), que observaram indução de deoxiantocianidinas em sorgo, com maior acúmulo dessa fitoalexina na concentração de 100 ppm. Ecolife⁴⁰ apresentou também ação indutora para a soja, induzindo maior acúmulo de gliceolinas na concentração de 5000 ppm para a cultura estudada (MOTOYAMA et al. 2002b, p.103).



Ecolife⁴⁰ apresentou também eficácia no controle de doenças, como exemplos são os estudos realizados por Silveira e Rios (2000, p.422), os quais observaram controle de 98 a 100% da ferrugem do feijoeiro comum, quando efetuadas aplicações do produto oito dias após a germinação da planta. Em plantas de tomateiro pulverizadas com Ecolife⁴⁰ (0,2%) aos 10 e 17 dias após a germinação, e em seguida inoculadas com *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Okabe) Young, Dye & Wilkie houve redução na quantidade de lesões das plantas pulverizadas em relação às plantas-testemunha (MENDONÇA et al. 2004a, p.85). O produto também se mostrou eficiente no controle da Sigatoka negra da bananeira (GASPAROTTO et al. 2003, p.15), ferrugem do feijoeiro (CASTRO et al. 2003, p.13-14) e oídio do feijoeiro (JAYME et al. 2003, p.14). Ecolife⁴⁰ foi também classificado como bom erradicante em estudos realizados por Hanada et al. (2004, p. 94-96), em que o produto inibiu totalmente a germinação de conídios de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet aderidos sobre frutos de banana, nas doses de 100 e 200 mg/L.

Ecolife⁴⁰ apresenta reconhecida atividade antifúngica e antibacteriana. Estudos realizados por Motoyama et al. (2002a, p.103), demonstraram efeito inibitório de Ecolife⁴⁰ sobre o crescimento micelial e germinação de esporos de *Colletotrichum lagenarium* Menten et Kimati e *Fusarium semitectum* Berkeley & Ravenel, principalmente para a concentração de 5000 ppm. Mendonça et al. (2004b, p.86) observaram ação fungistática do produto, inibindo o crescimento micelial de diferentes patógenos fúngicos na concentração de 0,3%. A atividade antibacteriana foi verificada por Mendonça et al. (2004c, p.86) em bioensaio *in vitro* com espécies de bactérias, demonstrando para algumas espécies, alta sensibilidade ao Ecolife⁴⁰ mesmo em doses mais baixas, e outras sensíveis apenas para concentrações mais elevadas. Motoyama et al. (2002b, p.103), verificaram ação antibacteriana de Ecolife⁴⁰ sobre o crescimento de *Ralstonia solanacearum* e *Xanthomonas axonopodis* Valterin et al.



apresentando efeito acentuado na redução de crescimento das bactérias, na concentração de 5000 ppm.

3.3.4. Borda Ferti, Nutri-phite e Trilogy como potenciais indutores de resistência de plantas

Os produtos Borda Ferti e Nutri-phite são classificados como vigorantes vegetativos que auxiliam para melhorar a eficiência da fertilização das plantas, e por essa característica, de fornecimento de alguns nutrientes específicos, podem melhorar processos vitais da planta que contribuem na resistência a doenças. Borda Ferti, por exemplo, apresenta em sua composição sulfato de cobre e cal virgem, fornecendo para a planta cálcio que auxilia no fortalecimento e dá resistência aos tecidos; enxofre que promove o aproveitamento do nitrogênio, e ainda o cobre, elemento de conhecida natureza antimicrobiana, que também atua como ativador do metabolismo e aumento do vigor da planta (BORDA FERTI, 2004, 3p.).

Borda Ferti vem sendo recomendado para o controle de doenças de frutíferas como maçã, manga, videira, citros, maracujá e morango, e para olerícolas como batata, alho, cebola e cenoura, atuando como protetor de folhas e promovendo a resistência da planta e dos frutos (BORDA FERTI, 2004, 3p.).

Nutri-phite apresenta em sua composição fosfato, atuando como fonte de fósforo, nutriente importante por promover resistência a planta, sendo sua ação atribuída tanto por aumentar o vigor como por acelerar a velocidade de maturação dos tecidos, encurtando o período de maior suscetibilidade do hospedeiro (BEDENDO, 1995, p.331-341). O produto apresenta ainda ação sobre a formação do ácido chiquímico, muito importante para resistência da planta, pois o caminho metabólico para formação desse ácido produz compostos como Fitoalexinas, Lignina, Tanino e Amino Ácidos Essenciais, os quais atuam como agentes da defesa natural das plantas e no combate a doenças. Em estudos comparando fontes diferentes



de fósforo, Nutri-phite apresentou profundo efeito sobre a indução do caminho metabólico do ácido chiquímico, promovendo alto nível de produção do ácido e por um período de tempo maior (BIAGRO, 2004).

Trilogy é um produto a base de extrato de óleo de Nim (*Azadirachta indica*). O extrato de folhas de Nim tem apresentado ação no controle de doenças como, no oídio da ervilha quando pulverizado no início do surgimento dos sintomas (SINDHAN et al. 1999, p.257-258), e com ação curativa sobre o oídio do pepino (STEINHAEUER, 1999, P.83-92), e ainda com ação direta sobre fungos fitopatogênicos (CARNEIRO, 2002, p.59-64). O óleo emulsionável de Nim, foi testado por Carneiro (2003, p.262-265) com pulverizações em plantas de tomate, e apresentou controle sobre o oídio em todas as doses testadas, indicando ação fungitóxica do produto.

O produto Trilogy vem sendo recomendado como inseticida, acaricida e também para o controle de doenças em algumas espécies como citros, bananeira, figueira e macieira, com pulverizações iniciadas a partir do momento em que as condições favoreçam a doença, porém antes que a infecção ocorra (TRILOGY®, 2003, 3p.).

Foram encontradas poucas publicações a respeito de Borda Ferti, Nutri-phite e Trilogy, pois os mesmos são produtos novos que estão sendo inseridos no mercado brasileiro, estando ainda em fase de pesquisa, consequentemente com poucas informações a respeito.

3.4. Controle com fungicidas

O uso de controle químico na acerola é difícil, por não existirem produtos registrados para essa cultura (KONRAD, 2002, 119p.), sendo comumente utilizados produtos que são recomendados para culturas que se assemelhem com a acerola, geralmente outras frutíferas ou então olerícolas. Este controle acaba sendo realizado esporadicamente, e não especificamente

para a cultura, o que torna muitas vezes uma prática inviável, por não apresentar sucesso no controle das doenças.

Para realização deste trabalho foram selecionados produtos que já foram recomendados para a cultura da acerola (FREIRE et al. 1994, 326p.), que apresentem amplo espectro de ação e pertençam a diferentes grupos de fungicidas. Um deles é o Oxícloreto de Cobre, um fungicida amplamente utilizado no controle de doenças desde o século XIX. Pertence ao grupo dos fungicidas de contato ou protetores, cúprico inorgânico da classe toxicológica IV, sendo que seu período de carência é de um modo geral de sete dias. Tem sido recomendado para muitas frutíferas como: banana, citros, goiabeira, videira, mamão, manga, cacaueiro e caju (ABEAS, 2001, p.1-15). Gregorine et al. (2000, p.276) verificaram que oxícloreto de cobre é eficiente no controle da mancha aureolada do cafeeiro, na dose de 125 g i.a./100 L de água, e quando utilizado para controlar a vassoura-de-bruxa do cacaueiro, além de controlar a doença não afetou possíveis antagonistas de *Crinipellis pernicioso*, sendo benéfico para o controle biológico (QUEIROS et al. 2000, p.273)

Outro fungicida que foi utilizado é o Benomyl, do grupo dos benzimidazoles com amplo espectro de ação e excelente sistemicidade, utilizados inicialmente no ano de 1960, sendo que atualmente 50% dos fungicidas benzimidazoles recomendados correspondem ao produto Benomyl. O Benomyl é um dos fungicidas menos tóxicos aos animais, com atividade sistêmica e função protetora contra grande espectro de doenças causadas por fungos (PICCININI, 1994, p.357-386).

O Azoxystrobin foi desenvolvido mais recentemente na década de 90, através de estudo de compostos produzidos por cogumelos comestíveis, pertence ao grupo das Strobirulinas, sendo um fungicida de amplo espectro de ação, atuando em doses baixas de 40 a 80 g do i.a./ha. Apresenta ação fungicida preventiva, curativa e antiesporulante, absorvido de forma gradativa e é rapidamente degradado no solo, sendo considerado seguro e não

fitotóxico para as diversas culturas e doses recomendadas (ABEAS, 2001, p.1-15). É registrado para maçã, mas demonstrou bom controle para patógenos da manga (MOREIRA et al. 2002, p.222), da videira (ABEAS, 2001, p.1-15). Azoxystrobin também vem sendo aplicado com sucesso em espécies frutíferas como no controle da verrugose do citros (MOMESSO et al. 2002, p.81), na videira como promotor de manutenção de folhas após a colheita (RIBEIRO et al. 1999, p.29), em outras espécies como pimentão, promovendo o controle da antracnose (VEIGA et al. 2000, p.259) e no alho controlando a ferrugem (DALLA PRIA et al. 1998, p.237).

Para ampliar os grupos de fungicidas foram utilizados também os fungicidas Mancozeb e Tebuconazole. O fungicida Mancozeb pertence ao grupo químico dos Ditiocarbamatos, produtos químicos orgânicos, descobertos em 1931 por Tisdale e Williams nos Estados Unidos. Os fungicidas deste grupo apresentam grau baixo de fitotoxicidade, amplo espectro de ação e eficiência no controle de várias doenças, além de compatibilidade com a maioria dos inseticidas e adjuvantes (ABEAS, 2001, p.1-15).

Mancozeb é um fungicida derivado do agente ativo zineb, que apresenta ação protetora de contato, e devido a sua composição (18% manganês; 2% zinco; 62% íon etileno bisditiocarbamato) fornece os microelementos manganês e zinco, essenciais às plantas (ABEAS, 2001, p.1-15). É um produto recomendado para um grande número de espécies, desde frutíferas, olerícolas até grandes culturas, para o controle de doenças que atacam as partes aéreas (folhagem e frutos) (AZEVEDO, 2003, 319p.). Mancozeb vem sendo aplicado na agricultura há mais de 40 anos, considerado um produto de importância no manejo de doenças por apresentar capacidade de controlar mais de 400 fungos patogênicos em diferentes culturas, entre elas frutíferas como a uva, maçã e citros (AZEVEDO, 2003, 319p.).

O fungicida Tebuconazole é um produto sistêmico com ação protetora e erradicante, pertencente ao grupo químico dos Triazóis, sendo solúvel em água a 20 °C. Recomendado

para culturas como: amendoim, banana, arroz, café, trigo e cevada (ABEAS, 2001, p.1-15). Tem demonstrado eficácia no controle da mancha angular e antracnose do feijoeiro (ITO et al. 1999, p.44-45), no controle da verrugose do maracujazeiro (GALLI et al. 1998, p.59) e para o controle da mancha zonada em pepino (LOPES et al. 1998, p.253).

Ensaios *in vitro* têm demonstrado a capacidade antifúngica dos fungicidas sobre o crescimento micelial, esporulação e germinação de esporos de patógenos fúngicos, evidenciando a ação direta dos produtos sobre fitopatógenos. Benomyl por exemplo, apresentou inibição no crescimento micelial de *C. gloeosporioides* (antracnose de hortaliças solanáceas) (MELLO e MASSOLA, 2004, p.73), *Guignardia citricarpa* Kiely causadora da mancha preta dos citros (AGUILAR-VILDOSO et al. 1999, p.28) e *Colletotrichum musae* (LEITE et al. 2001, p.122), demonstrando o amplo espectro de ação do fungicida. Tebuconazole inibindo o crescimento micelial de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* (South) A. S. Costa (IAMAMOTO et al. 1998, p.73) e o Oxicloreto de Cobre com efeito na inibição da germinação de esporos de *Colletotrichum* sp. (QUIRINO et al. 2000, p.266), e ainda Mancozeb com ação protetora eficiente sobre a germinação de conídios de *C. gloeosporioides* isolado da mangueira (MATOS, 2003, 50P.), são alguns exemplos do efeito fungistático dos fungicidas.



4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

Os ensaios *in vitro* foram realizados no Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da F.E./UNESP - Campus de Ilha Solteira, e posteriormente os ensaios *in vivo* foram realizados em casa de vegetação localizada no Campus da Universidade.

As plantas de acerola do cultivar Olivier foram fornecidas pelo Viveiro da Associação dos Produtores de Junqueirópolis, SP. A Quitosana foi fornecida pelo professor Dr. Affonso Gonçalves Júnior (UNIOESTE – PR.), o Acibenzolar-S-methyl fornecido pela empresa Syngenta, Ecolife⁴⁰ fornecido pela empresa Quinabra, e Azoxystrobin, Benomyl, Mancozeb, Oxidocloreto de Cobre e o Tebuconazole adquiridos em empresa de vendas de insumos agrícolas.

4.2. Métodos

4.2.1. Ensaios *in vitro*

a) Isolamento de *C. gloeosporioides* e *C. cassicola*:

C. gloeosporioides e *C. cassicola* foram isolados diretamente a partir de folhas de acerola com sintomas das doenças e sinais dos patógenos. Para tanto, porções da mucilagem



contendo os conídios dos fungos foram transferidas, com auxílio de uma agulha esterilizada, para meio de cultura. Os fungos foram cultivados em meio de batata-dextrose-ágar (BDA: 200 g de batata, 20 g de dextrose, 20 g de ágar, 1000 mL de água destilada) e em meio de aveia (20 g de aveia, 4,5 g de ágar, 300 mL de água destilada), sob luz fluorescente, a 25 °C. Todos os experimentos *in vitro* foram realizados duas vezes para confirmação dos resultados e maior segurança dos dados obtidos. Para efeito de análise estatística foi realizada uma média dos dados obtidos em cada ensaio, sendo essa média considerada para as análises.

b) Preparo das soluções:

A Quitosana, de procedência comercial, obtida da moagem de cascas secas de camarão, foi dissolvida em HCl 0,04 N, por ser insolúvel em água (GONÇALVES JR, 2002, 120p.), ajustando-se, posteriormente, o pH da solução obtida para 5,6 com KOH 2 N (EL GHAOUTH et al. 1994, p.313-320). Para os ensaios *in vitro* foram utilizadas soluções com concentrações de Quitosana de 50, 100, 250 e 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$ incorporadas ao meio e em seguida autoclavadas a 120 °C e 1 atm por 20 min.

Os outros produtos utilizados: Acibenzolar-S-methyl (ASM) nas concentrações de 25, 50, 100, 200 e 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ do ingrediente ativo, Ecolife⁴⁰ (0,15; 0,3 e 0,6% i.a./mL), Trilogy (1, 10, 100 e 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ do i. a.), Borda Ferti (1, 10, 100 e 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ do i. a.), Nutri-phite (1, 10, 100 e 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ do i. a.) e os fungicidas Azoxystrobin, Benomyl, Mancozeb, Oxicleto de Cobre e Tebuconazole na dose de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ do ingrediente ativo, foram dissolvidos em água destilada e incorporados nos meios de cultura após a autoclavagem. Todos os produtos com as respectivas formulações, ingredientes ativos e grupos químicos estão descritos na Tabela 1.

Para o ensaio *in vivo* as soluções de Quitosana nas concentrações de 100, 250 e 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e em misturas, também foram dissolvidas em HCl 0,04 N e em seguida ajustado

o pH para posterior adição de 1% de Tween 80. O Acibenzolar-S-methyl (0,015; 0,025 e 0,050 g i.a./L), Benomyl (0,5 g i.a./L), Mancozeb (2,0 g i.a./L) e Tebuconazole (0,2 g i.a./L) foram dissolvidos em água destilada com a adição de 1% de Tween 80 em cada tratamento. Nos tratamentos constituídos de misturas, Acibenzolar-S-methyl na dose 0,025 g i.a./L e Quitosana na dose 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ foram misturados a cada um dos fungicidas nas respectivas doses descritas anteriormente, também acrescentando 1% de Tween 80. O tratamento controle consistiu de água destilada com adição de 1% de Tween 80.

Tabela 1. Relação dos produtos utilizados nas avaliações.

Ingrediente Ativo	Nome Comercial	Formulação	Grupo Químico
Acibenzolar-S-methyl	Bion	Grânulo dispersível	Benzothiadiazole
Azoxystrobin	Amistar	Grânulo Dispersivo (WG)	Estrobirulina
Benomyl	Benlate	Pó Molhável (PM)	Benzimidazol
Cal virgem e sulfato de cobre	Borda Ferti	Concent. Emulsionável (CE)	-
Vitaminas e ácidos orgânicos	Ecolife ⁴⁰	Concent. Emulsionável (CE)	-
Mancozeb	Dithane	Pó Molhável (PM)	Ditiocarbamato
Nitrogênio Fósforo	Nutri-phite	Concent. Emulsionável (CE)	-
Oxic. de Cobre	Recop	Pó Molhável (PM)	Cúprico
Quitosana	Quitosana	Pó	β -1,4 glucosamina
Tebuconazole	Folicur	Concent. Emulsionável (CE)	Triazol
Extrato de óleo de Nim	Trilogy	Concent. Emulsionável (CE)	-

c) Atividade antifúngica:

Inibição do crescimento micelial em meio sólido: as soluções de Quitosana foram incorporadas em meio de cultivo BDA e autoclavadas a 120 °C e 1 atm por 20 min. As concentrações indicadas anteriormente para Acibenzolar-S-methyl, Borda Ferti, Ecolife⁴⁰, Nutri-phite, Azoxystrobin, Benomyl, Mancozeb, Oxidloreto de Cobre e Tebuconazole foram dissolvidas em água destilada e incorporadas ao meio de cultivo BDA após autoclavagem. Após o meio ter sido distribuído em placas de Petri (9 cm diâmetro) e apresentar-se solidificado, um disco de 7 mm de diâmetro, contendo micélio de *C. gloeosporioides* ou *C. cassicola*, com 10 dias de idade em BDA, foi repicado para o centro de cada placa, as quais foram vedadas com filme plástico e mantidas a 25 °C, sob fotoperíodo (12 h de luz seguida de 12 h de escuro). Foram utilizadas cinco repetições por tratamento. O tratamento controle conteve apenas o meio BDA e BDA + HCl 0,04 N como testemunha para Quitosana. As avaliações foram realizadas através de medições do diâmetro das colônias (média de duas medidas diametralmente opostas) iniciadas 48 h após a instalação do experimento, e realizadas posteriormente de dois em dois dias, perdurando até o momento em que as colônias fúngicas atingiram três quarto da superfície do meio de cultura (STANGARLIN et al. 1999, p.16-21).

Inibição do crescimento micelial em meio líquido: as soluções de Quitosana foram incorporadas em meio de cultivo batata-dextrose (BD: 200 g de batata, 20 g de dextrose, 1000 mL de água destilada) nas concentrações indicadas para o meio sólido e autoclavadas a 120 °C e 1 atm por 20 min. As concentrações indicadas anteriormente para Acibenzolar-S-methyl, Borda Ferti, Ecolife⁴⁰, Nutri-phite, Azoxystrobin, Benomyl, Mancozeb, Oxidloreto de Cobre e Tebuconazole foram dissolvidas em água destilada e incorporadas ao meio de cultivo BD após autoclavagem. Foram utilizados frascos de 347 mL contendo 100 mL do meio de cultivo



e as respectivas concentrações dos tratamentos. Dois discos de 7 mm de diâmetro contendo micélio de *C. gloeosporioides* ou *C. cassiicola*, com 10 dias de idade em BDA, foram repicados para cada frasco, os quais foram mantidos a temperatura ambiente $25 \pm 3^\circ\text{C}$, sob fotoperíodo (12 h de luz seguida de 12 h de escuro) e agitação constante em agitador orbital (125 rpm). Após 9 dias para *C. gloeosporioides* e 12 dias para *C. cassiicola*, o conteúdo de cada frasco foi filtrado em papel de filtro Whatman nº 1 através de bomba a vácuo, sendo em seguida realizada secagem do resíduo micelial (retido no papel filtro) em estufa a 60°C até peso constante, para determinação da massa de micélio produzido. Foram utilizadas cinco repetições por tratamento. O tratamento controle continha apenas o meio BD e BD + HCl 0,04 N como testemunha para Quitosana.

Inibição da germinação de esporos: para o teste de inibição, uma alíquota de 40 μL da suspensão de esporos (2×10^5 conídios/mL determinada através de hemacitômetro), obtida pelo cultivo de *C. gloeosporioides* e *C. cassiicola* em meio BDA, e outra de 40 μL de cada concentração descrita acima de Acibenzolar-S-methyl, Borda Ferti, Ecolife⁴⁰, Nutri-phite, Quitosana, Azoxystrobin, Benomyl, Mancozeb, Oxicleto de Cobre e Tebuconazole, foram colocadas em cada um dos poçinhos de uma placa usada em teste de ELISA (REGENTE et al. 1997, p.178-182). Essas placas foram incubadas a 25°C e sob iluminação, sendo o porcentual de germinação de esporos, determinado 12 h após o início do experimento, utilizando-se azul algodão de lactofenol, para paralisar a germinação e observação ao microscópio ótico. Foi considerado como esporo germinado, aquele que apresentou tubo germinativo maior ou igual a sua largura. Cada tratamento continha cinco repetições, sendo considerado cada pocinho da placa de Teste ELISA uma repetição.



4.2.2. Ensaios *in vivo*

a) Indução de resistência em acerola a *C. cassiicola*:

Plantas de acerola foram cultivadas em vasos plásticos contendo uma mistura de solo, areia e matéria orgânica, mantidas sob casa de vegetação, em temperatura ambiente, que no período de realização dos ensaios variou entre 20 e 9 °C. Foram utilizadas duas plantas por tratamento, as quais foram pulverizadas com Quitosana, Acibenzolar-S-methyl, Benomyl, Mancozeb, Tebuconazole ou misturas dos produtos, nas concentrações descritas anteriormente. As inoculações foram realizadas 0, 3 e 5 dias após os tratamentos com cada concentração dos produtos, sendo inoculadas seis folhas de cada planta, com um disco de 5 mm de diâmetro contendo micélio de *C. cassiicola* colocado sobre a folha e retirado após 48 h. As plantas sofreram pré e pós-tratamento, com condição de câmara úmida, por 24 horas antes e depois da inoculação. O tamanho e o número das lesões foram avaliados 15 dias após as inoculações.

4.3. Análise estatística

Em todas as avaliações de laboratório foram utilizados o delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco repetições. Cada repetição foi representada por uma placa de Petri, ou um frasco de vidro, ou um pocinho da placa de ELISA. As percentagens de inibição do crescimento micelial e da germinação de esporos foram calculadas para cada dose, em relação à testemunha por meio das fórmulas PIC (Percentual de inibição do crescimento micelial) e PIG (Percentual de inibição da germinação de esporos).



$$\text{PIC} = \frac{\text{Diâmetro da testemunha} - \text{Diâmetro do tratamento} \times 100}{\text{Diâmetro da testemunha}}$$

$$\text{PIG} = \frac{\text{N}^\circ \text{ esporos germ. da testemunha} - \text{N}^\circ \text{ esporos germ. do tratamento} \times 100}{\text{N}^\circ \text{ esporos germ. da testemunha}}$$

A. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração efetiva para inibição do crescimento micelial em 50% (EC_{50}) e a dose letal para inibir 50% da germinação dos esporos (DL_{50}) foram estimadas através de regressão linear. Para os dados quantitativos (concentrações) ajustou-se a equação de regressão, e aos dados qualitativos (diferentes indutores e fungicidas) foi aplicado o teste de Tukey a 5% de probabilidade (PIMENTEL-GOMES, 1985, 466p.).

Nos ensaios *in vivo* o delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 6 repetições. Os tratamentos foram arrançados em esquema fatorial, com 16 tratamentos e três épocas de inoculações (0, 3 e 5 dias). Cada repetição foi representada por duas folhas inoculadas.

Os fungos Benomyl e Tebuconazole suprimiram gradualmente o crescimento micelial (Tabela 2 e Figura 1B) de *C. roseopersici*, diferindo dos demais tratamentos. Pastorelli e Margni (2001, p.113) observaram efeito semelhante em relação ao efeito de Benomyl sobre *C. roseopersici*, isolado de soja. A ação direta de Benomyl sobre patógenos fúngicos também foi comprovada para espécies como *C. glomerata* (patógeno de hortaliças solanáceas) (MELLO & MANSOLA, 2004, p.71), *Claviceps* spp. (causador de fusariose para os cereais) (AGUILAR-VILLAGOSO et al. 1999, p.38) e *Colletotrichum* spp. (LEITE et al. 2001, p.122), demonstrando a ampla espectro de ação da fungicida.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Efeito de indutores de resistência de plantas e fungicidas no crescimento micelial de *C. gloeosporioides* e de *C. cassiicola*, incorporados em meio de cultura sólido

Os resultados referentes à inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* e *C. cassiicola* em meio sólido, constituído de batata-dextrose-ágar, estão apresentados na Tabela 2. Para efeito comparativo entre os indutores de resistência e os demais produtos, na análise estatística foi utilizada a concentração de cada indutor que apresentou maior efeito inibitório sobre o crescimento dos fitopatógenos, tendo sido esta comparada com os fungicidas, pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os fungicidas Benomyl e Tebuconazole suprimiram totalmente o crescimento micelial (Tabela 2 e Figura 3B) de *C. cassiicola*, diferindo dos demais tratamentos. Padovani e Marçon (2001, p.112) observaram efeito semelhante em relação ao efeito de Benomyl sobre *C. cassiicola*, isolado da soja. A ação direta de Benomyl sobre patógenos fúngicos também foi constatada para espécies como *C. gloeosporioides* (antracnose de hortaliças solanáceas) (MELLO e MASSOLA, 2004, p.73), *Guignardia citricarpa* causadora da mancha preta dos citros (AGUILAR-VILDOSO et al. 1999, p.28) e *Colletotrichum musae* (LEITE et al. 2001, p.122), demonstrando o amplo espectro de ação do fungicida.



Tabela 2. Efeito de produtos indutores de resistência de plantas e fungicidas na inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* e de *Corynespora cassiicola* em meio sólido *in vitro*. Ilha Solteira-SP, 2004.

Tratamento - $\mu\text{g mL}^{-1}$	% Inibição do Crescimento Micelial	
	<i>C. gloeosporioides</i> ¹	<i>C. cassiicola</i> ²
Acibenzolar-S-methyl – 1000	39,49 gf ³	17,60 ef
Azoxystrobin – 100	36,97 g	18,99 e
Benomyl – 100	87,79 b	100,00 a
Borda Ferti – 1000	60,89 d	38,10 d
Ecolife - 0,6 ⁴	74,96 c	77,74 b
Mancozeb – 100	45,78 e	59,87 c
Nutri-phite – 1000	7,04 i	39,24 d
Oxicloreto de Cobre – 100	40,87 f	21,37 e
Quitosana – 400	6,66 i	12,70 f
Tebuconazole – 100	100,00 a	100,00 a
Trilogy – 1000	18,35 h	18,61 e
CV(%)	3,41	6,01
DMS	3,20	5,48

¹Obtidos 10 dias após repicagem do fungo; ²Obtidos 16 dias após repicagem do fungo; ³Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo Teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade; ⁴Valor da dose em % i.a./mL.

Entre os demais produtos utilizados, o Ecolife⁴⁰ proporcionou a maior redução no crescimento micelial para *C. cassiicola* e *C. gloeosporioides*, inibindo respectivamente em 77 e 75% o crescimento micelial dos fungos (Tabela 2 e Figura 4), quando comparado com a testemunha. Esses dados relacionados ao Ecolife⁴⁰ são parcialmente semelhantes aos obtidos por Mendonça et al. (2004b, p.86), que ao avaliarem o efeito *in vitro* deste produto para patógenos fúngicos do tomateiro, utilizando 0,3% de concentração, observaram inibição total do crescimento micelial de *Verticilium dahliae*, e redução em graus variáveis, para os outros patógenos, incluindo *C. cassiicola*.



Figura 3. Efeito de fungicidas na concentração de 100 µg mL⁻¹ no crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* (A) e *Corynespora cassicola* (B). Ilha Solteira-SP, 2004.

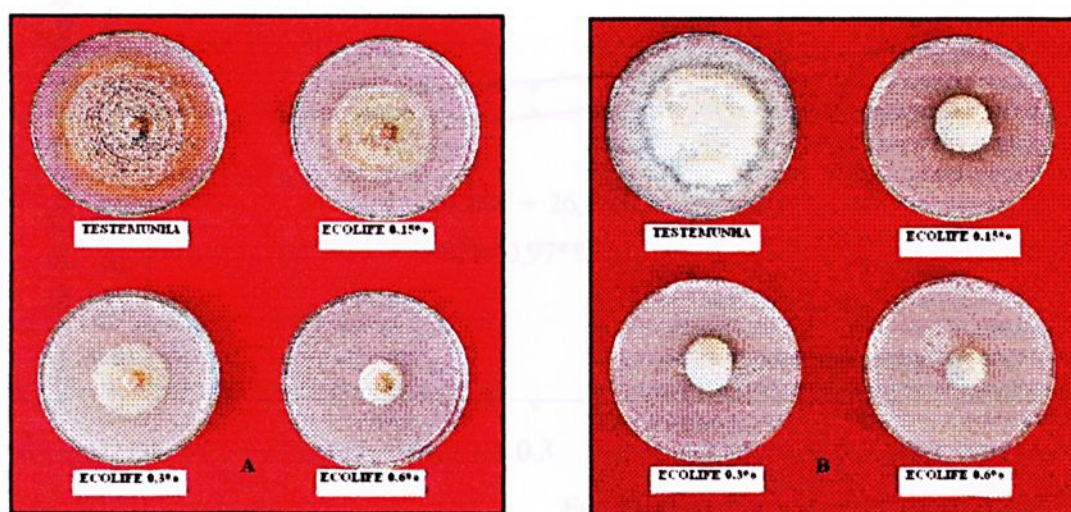


Figura 4. Efeito de Ecolife⁴⁰ no crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* (A) e *Corynespora cassicola* (B). Ilha Solteira-SP, 2004.

Considerando-se o efeito de doses crescentes de Ecolife⁴⁰ sobre os crescimentos fúngicos de *C. gloeosporioides* e *C. cassicola* (Figura 5), verificou-se que com o aumento das concentrações, ocorreram reduções dos crescimentos miceliais. Resultados semelhantes foram obtidos por Toffano et al. (2004, p.118), que avaliaram o efeito do produto sobre o crescimento micelial de *Alternaria solani* (Ell. & Mart.) Jones & Grout, e observaram que para a menor dose, a redução no crescimento foi de 17%, enquanto que para a maior dose, a redução foi de 50%. No presente trabalho, para *C. gloeosporioides*, após 10 dias da repicagem, na concentração de 0,15% i.a./mL houve uma redução no crescimento micelial de 55%, enquanto que na concentração de 0,6% i.a./mL, constatou-se redução em torno de 75%.

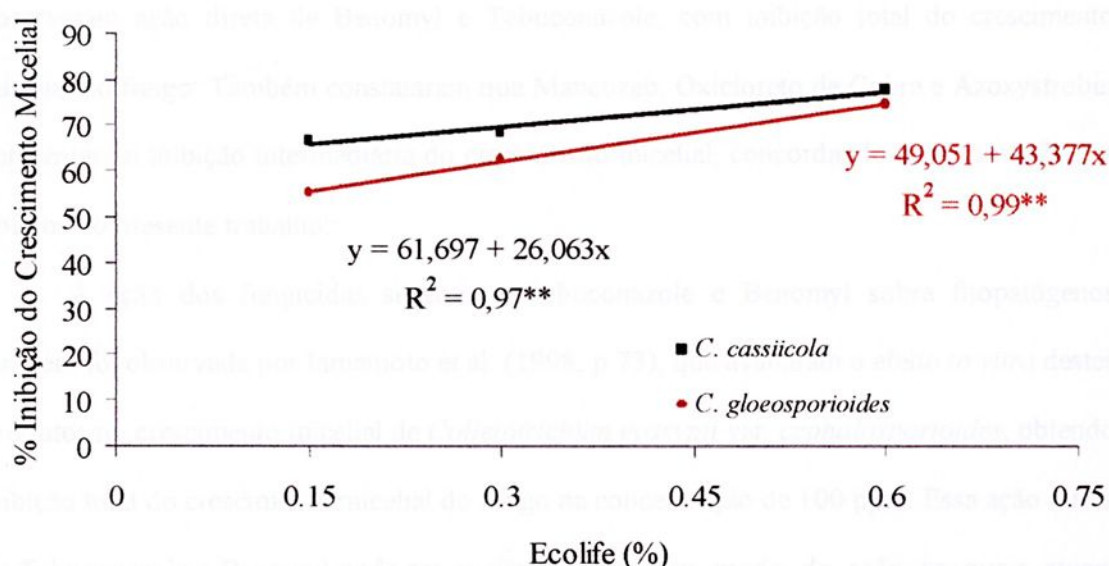


Figura 5. Inibição do crescimento micelial (%) de *Colletotrichum gloeosporioides* e de *Corynespora cassicola* em meio sólido de BDA, e doses do bioestimulante Ecolife⁴⁰. Ilha Solteira-SP, 2004.

Para o ensaio com *C. cassicola* a diferença entre as concentrações foi menor, ocorrendo redução no crescimento micelial de 66 e 77%, respectivamente para as concentrações de 0,15% i.a./mL, e de 0,6% i.a./mL. O ajuste das equações de regressão foi significativo para Ecolife⁴⁰, demonstrando o efeito linear das concentrações sobre a inibição do crescimento micelial dos fitopatógenos. Esses resultados indicam uma elevada natureza fungistática de Ecolife⁴⁰, que apresentou valores de EC₅₀ estimados em 0,02 e -0,4% i.a./mL sobre o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* e *C. cassicola*, respectivamente (Tabelas 3 e 4).

Quanto ao efeito dos fungicidas sobre o crescimento micelial de *C. gloeosporioides*, as maiores inibições foram proporcionadas por Tebuconazole e Benomyl (Tabela 2 e Figura 3 A), sendo que o primeiro inibiu totalmente o crescimento do micélio, diferindo estatisticamente de Benomyl. Dados semelhantes aos obtidos por Matos e Papa (2004, p.123), que ao avaliar a sensibilidade a fungicidas de diferentes isolados de *C. gloeosporioides* da mangueira, observaram ação direta de Benomyl e Tebuconazole, com inibição total do crescimento micelial do fungo. Também constataram que Mancozeb, Oxidloreto de Cobre e Azoxystrobin apresentaram inibição intermediária do crescimento micelial, concordando com os resultados obtidos no presente trabalho.

A ação dos fungicidas sistêmicos Tebuconazole e Benomyl sobre fitopatógenos também foi observada por Iamamoto et al. (1998, p.73), que avaliaram o efeito *in vitro* destes produtos no crescimento micelial de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, obtendo inibição total do crescimento micelial do fungo na concentração de 100 ppm. Essa ação direta de Tebuconazole e Benomyl pode ser explicada pelo seu modo de ação, os quais atuam nos estádios de pós-penetração,



Tabela 3. Equações de regressão linear, concentração efetiva (EC₅₀) para inibição de 50% do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*. Ilha Solteira-SP, 2004.

Tratamentos	Meio Sólido			Meio Líquido		
	Equação de Regressão	R ²	EC ₅₀	Equação de Regressão	R ²	EC ₅₀
Acibenzolar-S-methyl	$y = -0,1779 + 0,0396x$	0,99*	>1000 ¹	ns ³	-	-
Borda Ferti	$y = 9,9227 + 0,052x$	0,91*	770,72	$y = 77,813 + 0,0159x$	0,97*	<1
Ecolife	$y = 49,051 + 43,377x$	0,99*	0,02 ²	$y = 86,835 + 24,569x$	0,60*	<0,15 ²
Nutri-phite	$y = 2,8299 + 0,0044x$	0,61*	>1000	ns	-	-
Quitosana	$y = 2,658 + 0,0098x$	0,88*	>1000	ns	-	-
Trilogy	$y = 2,9035 + 0,0155x$	0,99*	>1000	ns	-	-

¹Valores estimados a partir da equação de regressão linear, em µg mL⁻¹; ²Valores estimados a partir da equação de regressão linear, em %; ³Não significativo ao nível de 5% de probabilidade; *Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4. Equações de regressão linear, concentração efetiva (EC₅₀) para inibição de 50% do crescimento micelial de *Corynespora cassiicola*. Ilha Solteira-SP, 2004.

Tratamentos	Meio Sólido			Meio Líquido		
	Equação de Regressão	R ²	EC ₅₀	Equação de Regressão	R ²	EC ₅₀
Acibenzolar-S-methyl	$y = 0,1329 + 0,0175x$	0,99*	>1000 ¹	$y = 17,856 + 0,0682x$	0,64*	471,32 ¹
Borda Ferti	$y = 2,903 + 0,0354x$	0,99*	>1000	ns ³	-	-
Ecolife	$y = 61,697 + 26,063x$	0,97*	<0,15 ²	$y = 90,43 + 12,787x$	0,92*	<0,15 ²
Nutri-phite	$y = 14,24 + 0,0257x$	0,75*	>1000	$y = 0,8572 + 0,0137x$	0,45	>1000
Quitosana	$y = -1,2918 + 0,0392x$	0,89*	>1000	ns	-	-
Trilogy	$y = 6,8501 + 0,0122x$	0,74*	>1000	$y = -12,856 + 0,044x$	0,92*	>1000

¹Valores estimados a partir da equação de regressão linear, em µg mL⁻¹; ²Valores estimados a partir da equação de regressão linear, em %; ³Não significativo ao nível de 5% de probabilidade; *Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

infecção e colonização dos patógenos, ou seja, sobre seu crescimento micelial (AZEVEDO, 2001, 230p.). Já o efeito intermediário de Oxicleto de Cobre, Mancozeb e Azoxystrobin é explicado pela ação protetora e preventiva, atuando sobre a germinação dos esporos bem como sobre os eventuais esporos que possam ser depositados sobre a superfície (AZEVEDO, 2001, 230p.), não atuando especificamente sobre o crescimento dos fungos.

Para os produtos Acibenzolar-S-methyl, Quitosana, Borda Ferti, Nutri-phite e Trilogy considerados possíveis indutores de resistência, foram observados efeitos semelhantes sobre o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* e de *C. cassiicola*, demonstrando ação inibitória sobre o crescimento do micélio apenas nas concentrações mais elevadas dos mesmos (Tabela 2). Acibenzolar-S-methyl, por exemplo, inibiu somente 38 e 17% crescimento micelial de *C. gloeosporioides* e de *C. cassiicola* na concentração de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Tabela 2 e Figura 6). Resende et al. (2000, p.149-156), demonstraram que a EC_{90} (concentração efetiva para inibição de 90% do crescimento micelial) para Acibenzolar-S-methyl foi acima de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$, semelhante ao presente trabalho que também apresentou valores de EC_{50} (concentração efetiva para inibição de 50% do crescimento micelial) acima da maior dose testada, sugerindo que o mesmo apresente apenas a ação de indutor de resistência (Tabelas 3 e 4). Ainda segundo Resende et al. (2000, p.149-156), baseados em valor de EC_{50} estimado em $347,19 \mu\text{g mL}^{-1}$ para Acibenzolar-S-methyl, classificaram o mesmo como um produto químico de pouca ação fungitóxica para a germinação e o crescimento micelial de *Crinipellis pernicioso*. Segundo estes autores, na classificação dos níveis de toxidez para fungos proposta por Edgington et al. (1971, p.42-44), compostos com $\text{EC}_{50} > 50 \mu\text{g mL}^{-1}$ podem ser considerados como pouco fungitóxicos.



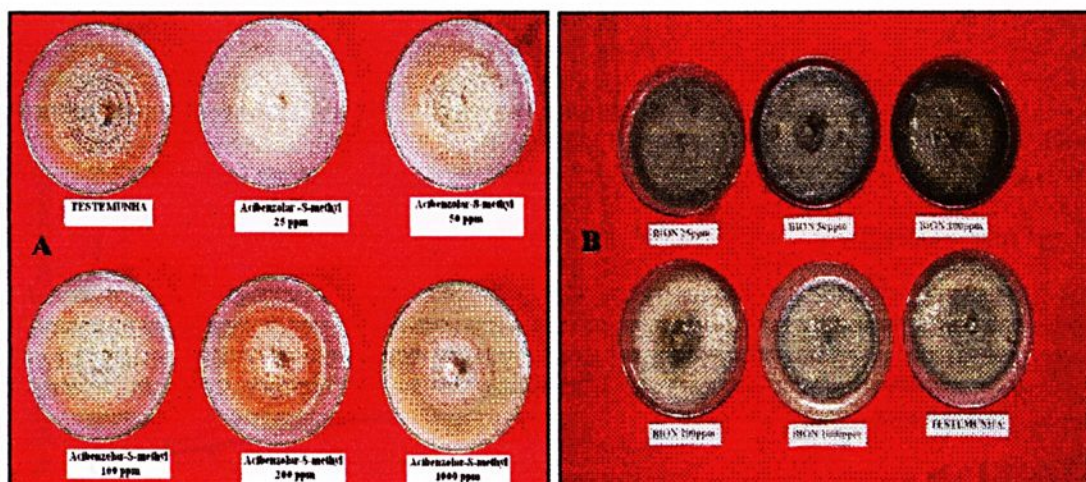


Figura 6. Efeito de Acibenzolar-S-methyl no crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* (A) e *Corynespora cassiicola* (B). Ilha Solteira-SP, 2004.

O efeito de Acibenzolar-S-methyl *in vitro* para os dois fitopatógenos foi significativo para ajuste da equação de regressão, apresentando efeito linear (Figura 7), ou seja, com o aumento da concentração do produto foi verificada maior inibição do crescimento micelial. Confirmando o efeito linear das concentrações de Acibenzolar-S-methyl, a maior inibição do crescimento micelial para *C. cassiicola* e *C. gloeosporioides* foi de 17,6 e 38% respectivamente, na concentração de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$, e os menores percentuais, 0,3 e 0,2%, na concentração de $25 \mu\text{g mL}^{-1}$. Pascholati et al. (1998, p.266-267) ao avaliarem o efeito *in vitro* de Acibenzolar-S-methyl sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum graminicola* Albuquerque, observaram redução no crescimento do micélio semelhante ao presente trabalho. Os percentuais de inibição do Acibenzolar-S-methyl descritos se assemelham com os resultados encontrados por Resende et al. (2000, p.149-156), que para a concentração de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$, observaram $67,89 \pm 10,1\%$ de inibição no crescimento micelial de *Crinipellis*

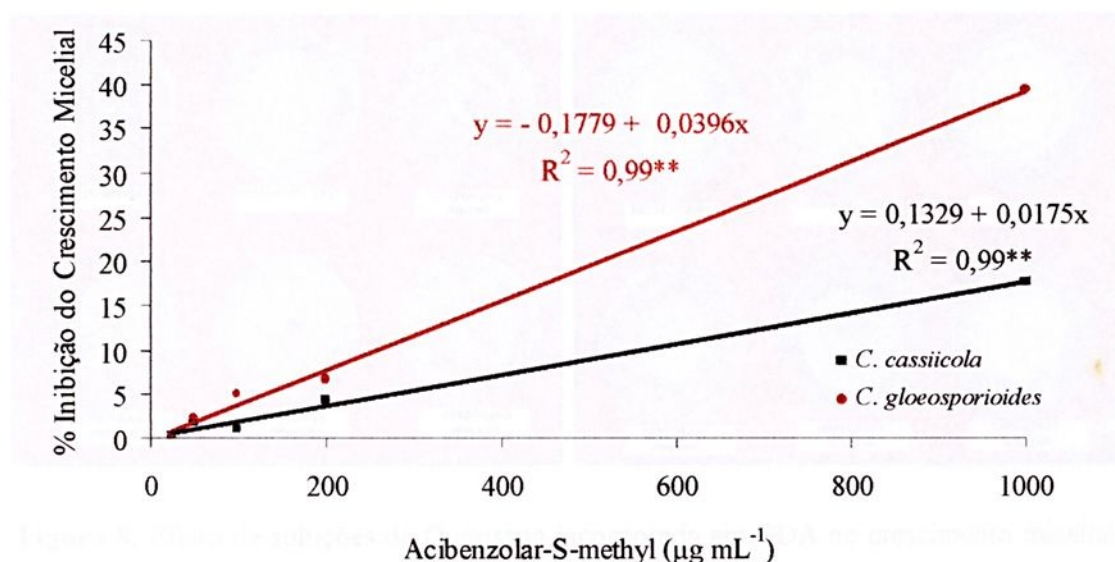


Figura 7. Inibição do crescimento micelial (%) de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Corynespora cassiicola*, em meio sólido de BDA e doses do indutor de resistência Acibenzolar-S-methyl. Ilha Solteira-SP, 2004.

perniciosa, considerado pelos autores valor relativamente baixo de inibição do crescimento micelial, atribuindo ao produto baixa ação fungistática.

Para Quitosana (Tabela 2 e Figura 8) foram verificadas reduções no crescimento micelial de 6,6 e 12,7%, respectivamente, para *C. gloeosporioides* e *C. cassiicola*. Com estes resultados, assim como os de Acibenzolar-S-methyl, constata-se que a Quitosana é pouco fungitóxica e o modo de ação destes produtos, pode ser de indutores de resistência de plantas. Carré et al. (2002a, p.104) observaram inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum musae* por Quitosana de no máximo 32%, demonstrando baixa fungitoxicidade deste produto. Ainda Bell et al. (1998, p.322-328) observaram alguma ação inibitória sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* apenas para as concentrações acima de 3 mg mL^{-1} .

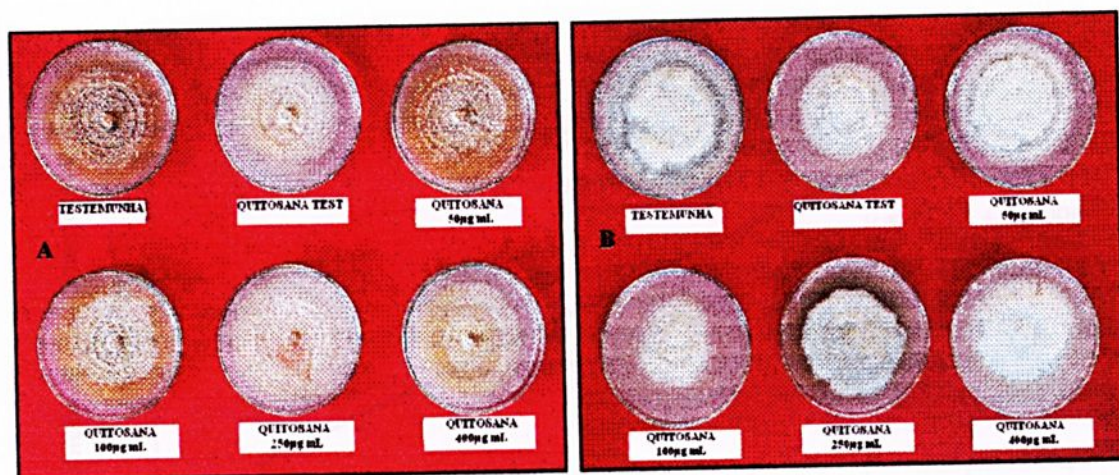


Figura 8. Efeito de soluções de Quitosana incorporada em BDA no crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* (A) e *Corynespora cassiicola* (B). Ilha Solteira-SP, 2004.

O ajuste da equação de regressão foi significativo para as diferentes concentrações de Quitosana (Figura 9), com efeito, linear para *C. gloeosporioides* e *C. cassiicola*, apresentando valores de EC_{50} sobre o crescimento micelial dos fungos acima do limite de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$, sugerindo baixa capacidade fungitóxica sobre os dois fitopatógenos (Tabelas 3 e 4).

Na Figura 8, pode-se observar que houve pouca variação na inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* entre as concentrações de Quitosana utilizadas, sendo a média dessa inibição baixa, em torno de 4%, enquanto que para *C. cassiicola* a diferença de redução do crescimento do micélio entre as concentrações, é visualmente mais nítida.

Os maiores percentuais de inibição obtidos com o Trilogy foram semelhantes para os dois fitopatógenos, sendo de 18,3 e 18,6% para *C. gloeosporioides* e *C. cassiicola* respectivamente (Tabela 2 e Figura 10). Quanto ao Nutri-phite, o produto

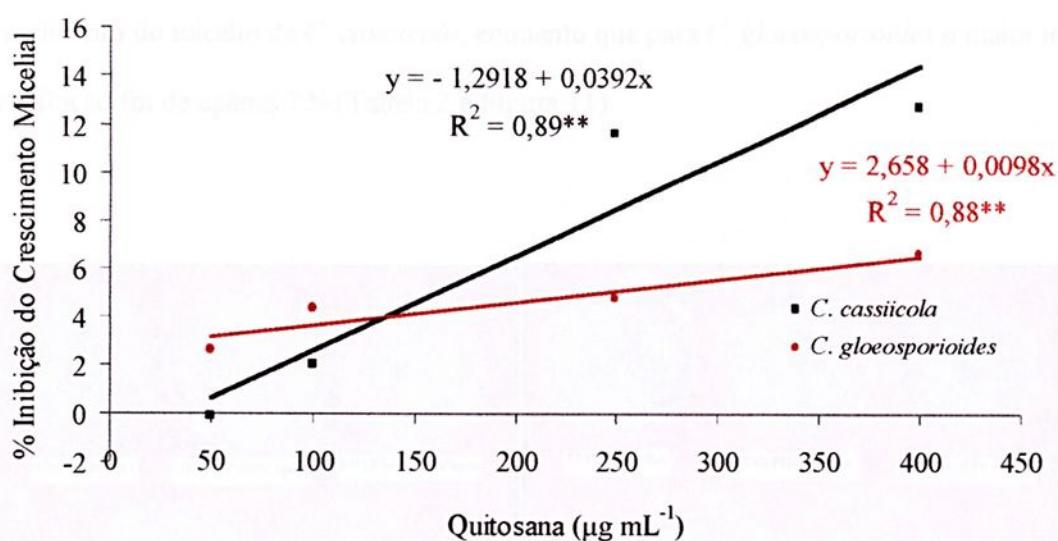


Figura 9. Inibição do crescimento micelial (%) de *Colletotrichum gloeosporioides* e de *Corynespora cassiicola*, em meio sólido de BDA e doses de Quitosana. Ilha Solteira-SP, 2004.

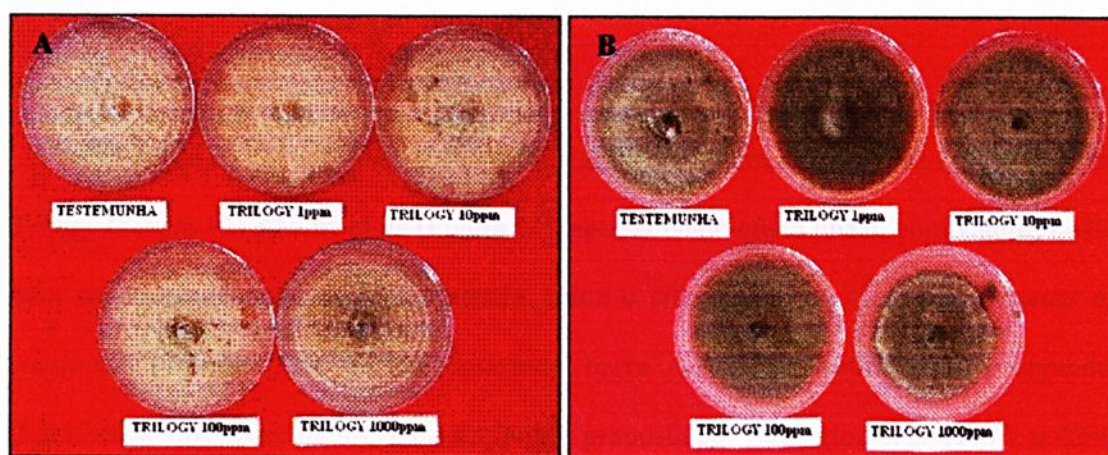


Figura 10. Efeito do Trilogy no crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* (A) e *Corynespora cassiicola* (B) incorporado em BDA. Ilha Solteira-SP, 2004.

apresentou efeito distinto sobre o crescimento micelial dos fungos, inibindo em até 39% o crescimento do micélio de *C. cassicola*, enquanto que para *C. gloeosporioides* o maior índice de inibição foi de apenas 7% (Tabela 2 e Figura 11).

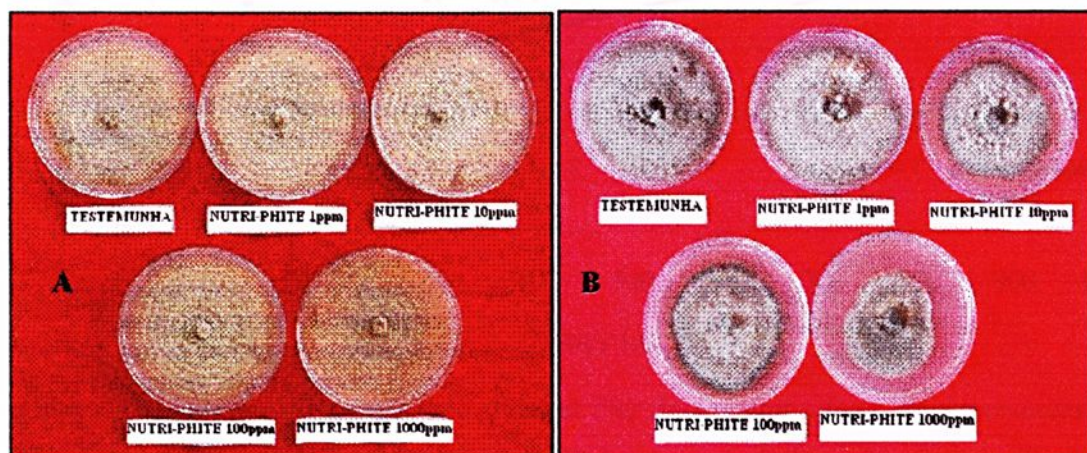


Figura 11. Efeito do Nutri-white no crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* (A) e *Corynespora cassicola* (B) incorporado em BDA. Ilha Solteira-SP, 2004.

O ajuste da equação de regressão foi significativo para as diferentes concentrações de Trilogy (Figura 12) e Nutri-white (Figura 13), apresentando efeito linear, com valores de EC_{50} bem superiores a maior dosagem testada, sobre o crescimento de *C. gloeosporioides* e *C. cassicola* (Tabelas 3 e 4), demonstrando baixa capacidade antifúngica, e segundo a classificação dos níveis de toxidez para fungos proposta por Edgington et al. (1971, p.42-44), compostos com $EC_{50} > 50 \mu\text{g mL}^{-1}$ podem ser considerados como pouco fungitóxicos, dessa maneira permite-se classificar Trilogy e Nutri-white como produtos químicos de baixíssima fungitoxicidade.

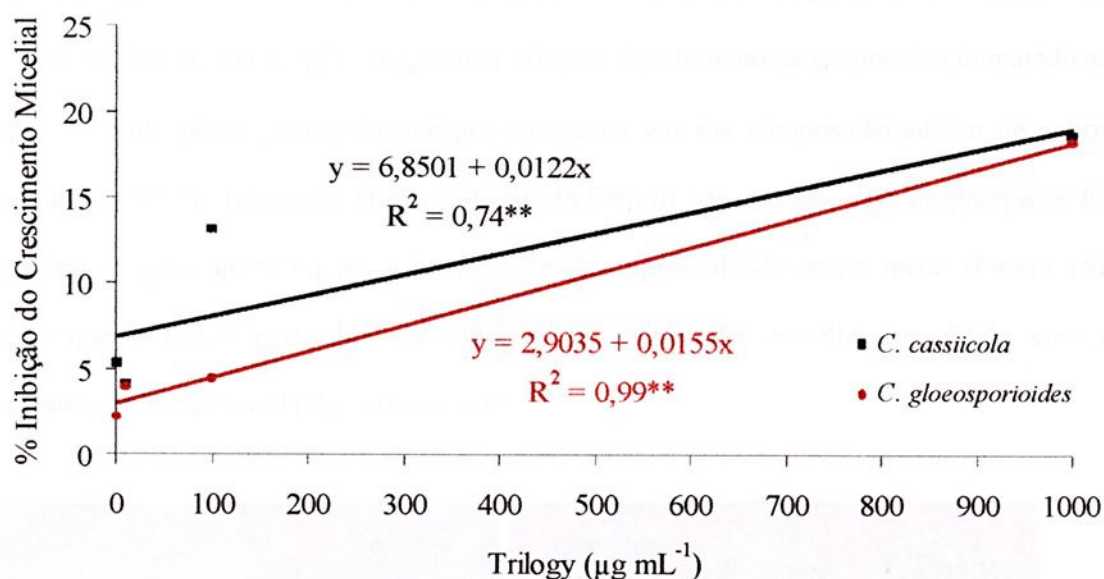


Figura 12. Inibição do crescimento micelial (%) de *Colletotrichum gloeosporioides* e de *Corynespora cassiicola*, em meio sólido de BDA e doses de Trilogy. Ilha Solteira-SP, 2004.

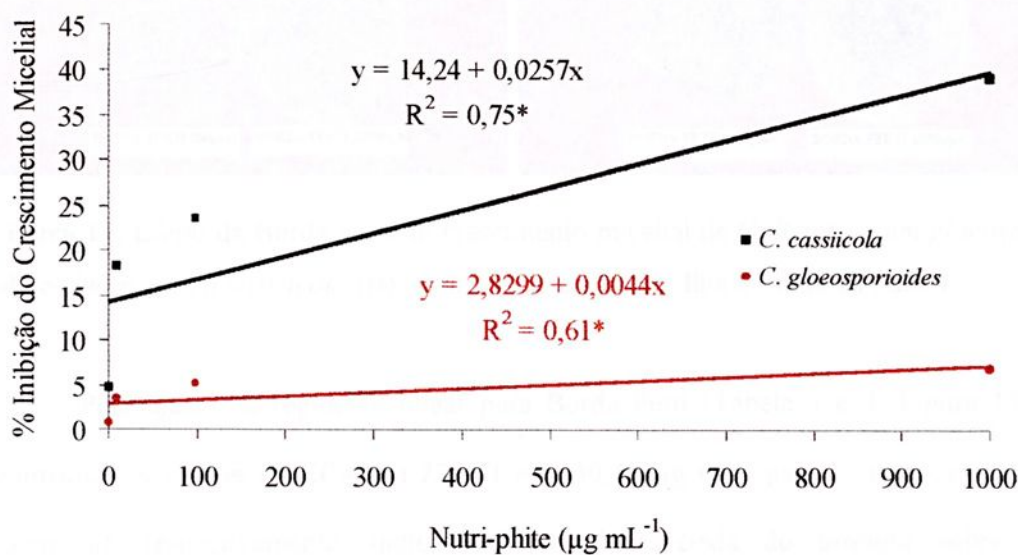


Figura 13. Inibição do crescimento micelial (%) de *Colletotrichum gloeosporioides* e de *Corynespora cassiicola*, em meio sólido de BDA e doses de Nutri-phite. Ilha Solteira-SP, 2004.

Para Borda Ferti foram verificadas reduções no crescimento micelial de 60% e 38%, respectivamente, para *C. gloeosporioides* e *C. cassicola* (Tabela 2 e Figura 14), demonstrando uma maior ação fungistática sobre os dois fitopatógenos quando comparado ao Trilogy e Nutri-phite, provavelmente por apresentar em sua composição sulfato de cobre, produto com efeito fungicida. O efeito de Borda Ferti *in vitro* para os dois fitopatógenos foi significativo para ajuste da equação de regressão, apresentando efeito linear (Figura 15), sendo que o maior percentual de inibição do crescimento micelial foi obtido com a concentração mais elevada de 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

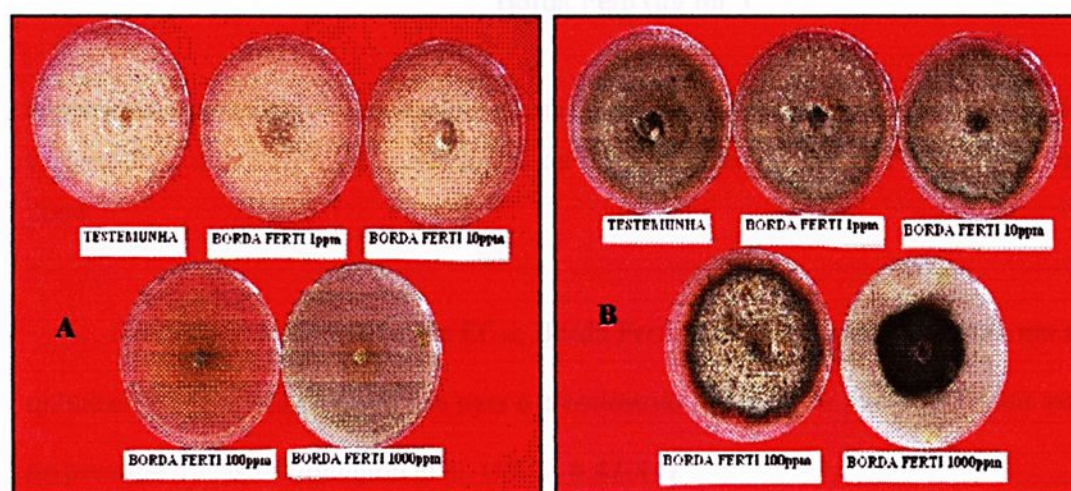


Figura 14. Efeito da Borda Ferti no crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* (A) e *Corynespora cassicola* (B) incorporado em BDA. Ilha Solteira-SP, 2004.

Pelo ajuste da regressão linear para Borda Ferti (Tabela 3 e 4; Figura 15), foram estimados os valores de EC_{50} em 770,71 e 1330,42 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para *C. gloeosporioides* e *C. cassicola*, respectivamente, indicando ação diferenciada do produto sobre os dois fitopatógenos. Quando comparado aos demais produtos testados, Borda Ferti mostrou-se com maior ação antimicrobiana *in vitro*.

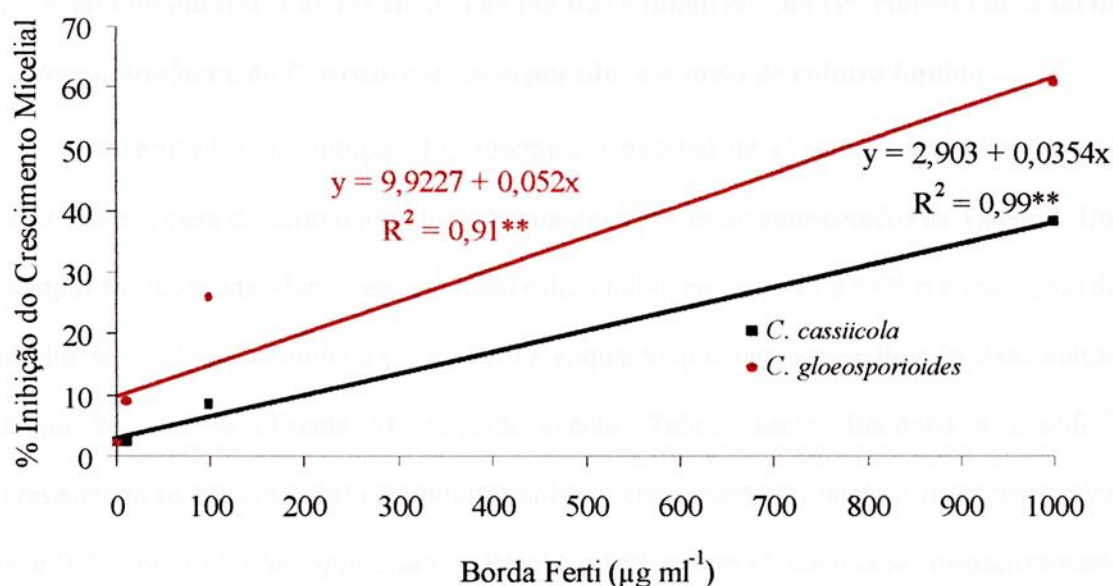


Figura 15. Inibição do crescimento micelial (%) de *Colletotrichum gloeosporioides* e de *Corynespora cassiicola*, em meio sólido de BDA e doses de Borda Ferti. Ilha Solteira-SP, 2004.

Considerando os valores de EC_{50} , Borda Ferti pode ser classificado como um produto químico de pouca ação fungitóxica para o crescimento micelial dos microrganismos estudados no presente trabalho Edgington et al. (1971, p.42-44).

5.2. Efeito de indutores de resistência de plantas e fungicidas no crescimento micelial de *C. gloeosporioides* e de *C. cassiicola*, incorporados em meio de cultura líquido

Os resultados de inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* e de *C. cassiicola* em meio de cultivo líquido de batata-dextrose, estão apresentados na Tabela 5. Um exemplo é o fungicida Mancozeb, em meio sólido inibiu cerca de 45 e 59% o crescimento do micélio de *C. gloeosporioides* e *C. cassiicola*, enquanto que para o meio líquido essa inibição atingiu 96 e 95% (Tabela 5), respectivamente. Tebuconazole, Benomyl e Ecolife⁴⁰, apresentaram os maiores efeitos inibitórios sobre o crescimento do micélio, na ordem de 99, 98 e 99% sobre *C. gloeosporioides*, e 94, 94 e 98% sobre *C. cassiicola*, respectivamente (Tabela 4).

A maioria dos tratamentos em meio líquido apresentou maior ação fungistática sobre *C. gloeosporioides* e *C. cassiicola* (Tabela 5) que no meio sólido (Tabela 2), esse fato pode ser explicado pelo maior contato dos produtos com o micélio do fungo, devido à permanência constante sob agitação, o que proporciona a movimentação das soluções. As soluções de Quitosana, por exemplo, apresentaram ação inibitória em torno de 5 e 7% respectivamente para *C. gloeosporioides* e de *C. cassiicola* em meio sólido, enquanto que para o meio líquido a média de inibição foi em torno de 84% para *C. gloeosporioides* (Figura 17). Dados semelhantes aos obtidos por Carré et al. (2002b, p.91), que em avaliação do efeito de Quitosana *in vitro* sobre *Colletotrichum musae*, observaram redução de até 48% no crescimento micelial, sendo o meio de cultivo líquido e mantido sob agitação, como no presente trabalho. Para *C. cassiicola* essa diferença na inibição do crescimento micelial foi menor, com uma média de percentagem de apenas 13% de inibição no meio líquido, porém maior que o índice do meio sólido. O ajuste de regressões não foi significativo para as soluções de Quitosana (Tabelas 3 e 4).



ação fungitóxica para o crescimento micelial de *C. cassiicola*, segundo a classificação dos níveis de toxidez para fungos proposta por Edgington et al. (1971, p.42-44).

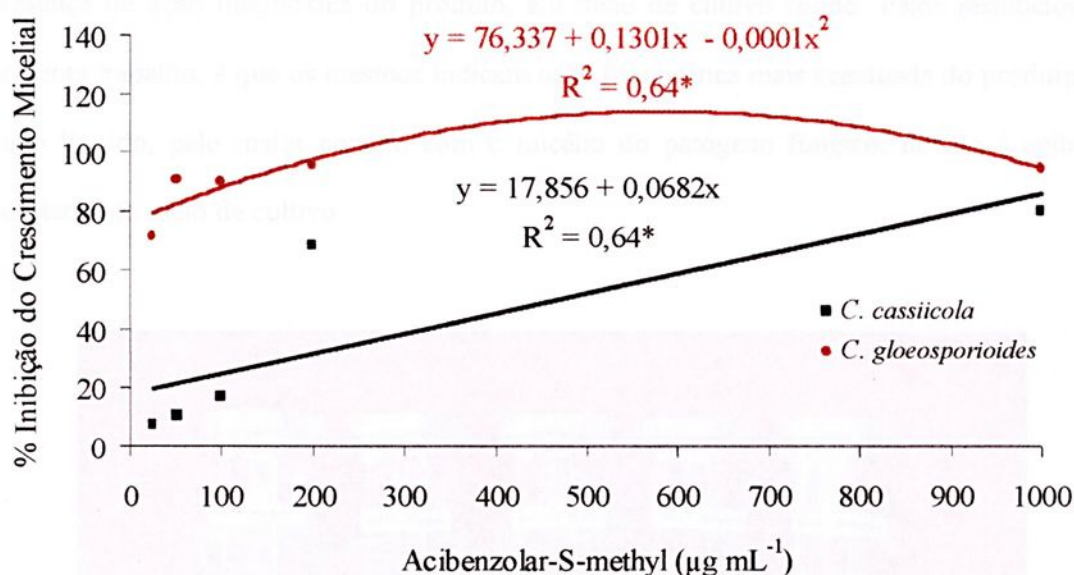


Figura 16. Inibição do crescimento micelial (%) de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Corynespora cassiicola*, em meio líquido, e doses do indutor de resistência Acibenzolar-S-methyl. Ilha Solteira-SP, 2004.

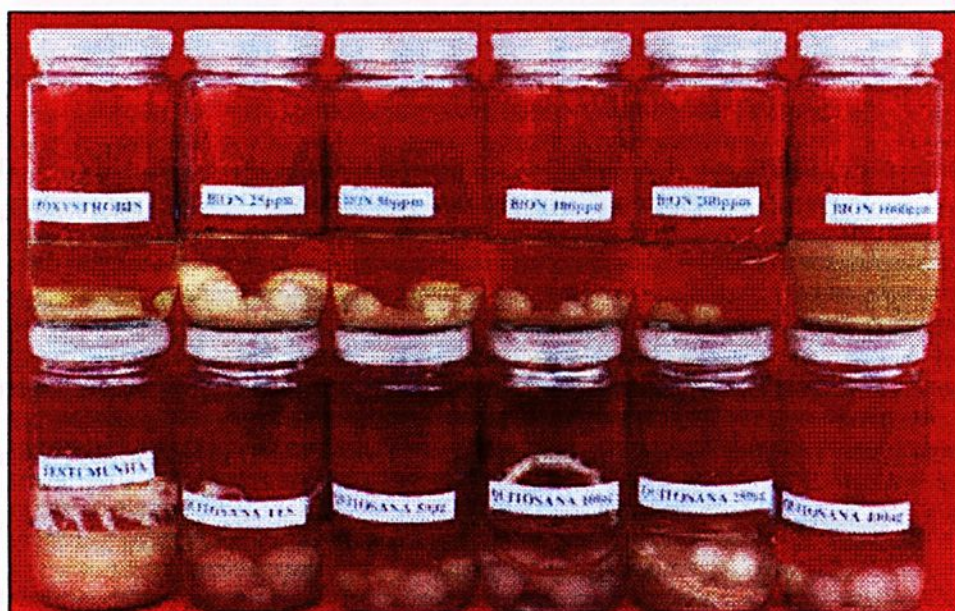


Figura 17. Efeito de Acibenzolar-S-methyl e Quitosana no crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio líquido. Ilha Solteira-SP, 2004.

Não foram encontrados na literatura trabalhos, que avaliam o efeito *in vitro* em meio de cultivo líquido de Acibenzolar-S-methyl. Pascholathi et al. (1998, p.266-267), admitem a presença de ação fungitóxica do produto, em meio de cultivo sólido. Pelos resultados do presente trabalho, é que os mesmos indicam ação fungistática mais acentuada do produto em meio líquido, pelo maior contato com o micélio do patógeno fúngico, devido à agitação constante do meio de cultivo.



Figura 18. Efeito de Acibenzolar-S-methyl e Quitosana no crescimento micelial de *Corynespora cassicola* em meio líquido. Ilha Solteira-SP, 2004.

O bioestimulante Ecolife⁴⁰, similar ao ensaio em meio de cultivo sólido, também proporcionou alta capacidade de ação inibitória no crescimento micelial dos fitopatógenos estudados (Figura 20). Foram obtidas as maiores percentagens de inibições, 99 e 98% para *C. gloeosporioides* e *C. cassicola*, e ajuste de regressão linear significativo (Figura 19), indicando que com o aumento da concentração, maior a redução do crescimento do micélio. Ainda pelo ajuste da regressão linear foram estimados os valores de EC₅₀ em 1,5 e -3,0% i.a./mL para *C. gloeosporioides* e *C. cassicola* (Tabelas 3 e 4). Os resultados desse ensaio

apresentam similaridade aos obtidos por Motoyama et al. (2002a, p.103), que ao estudarem o efeito de Ecolife⁴⁰ sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum lagenarium* e *Fusarium semitectum*, em meio de cultivo líquido, observaram que a tendência foi a de que quanto maior a concentração, maior o efeito do produto sobre os microrganismos, sendo 5000 ppm, a mais eficiente.

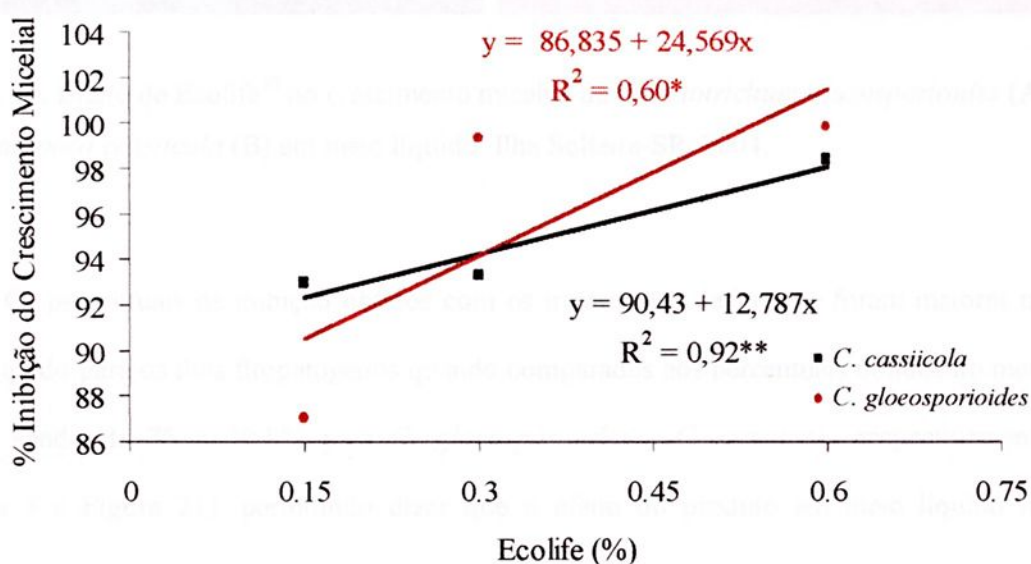


Figura 19. Inibição do crescimento micelial (%) de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Corynespora cassiicola*, em meio líquido, e doses do bioestimulante Ecolife⁴⁰. Ilha Solteira-SP, 2004.

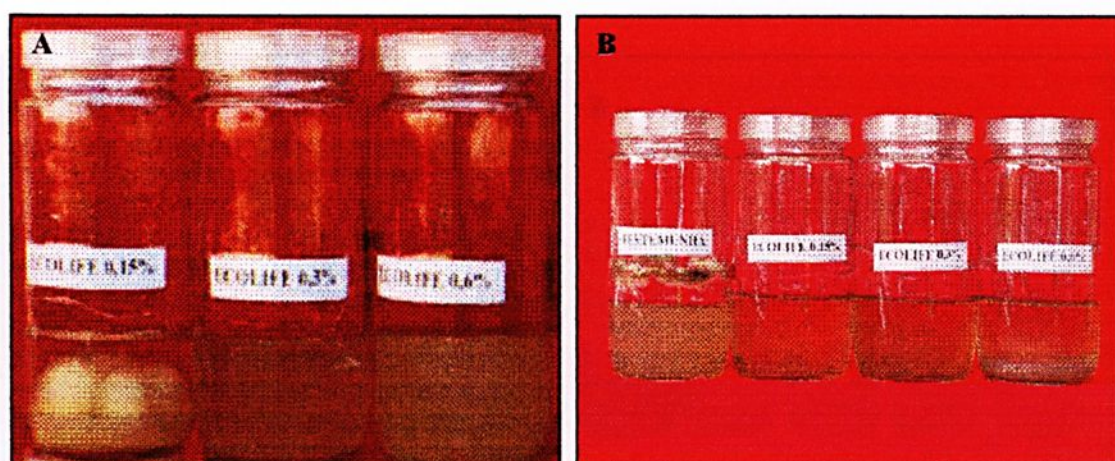


Figura 20. Efeito de Ecolife⁴⁰ no crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* (A) e *Corynespora cassiicola* (B) em meio líquido. Ilha Solteira-SP, 2004.

Os percentuais de inibição obtidos com os tratamentos de Trilogy foram maiores no meio líquido para os dois fitopatógenos quando comparados aos percentuais obtidos no meio sólido, sendo de 75 e 30,8% para *C. gloeosporioides* e *C. cassiicola* respectivamente (Tabela 5 e Figura 21), permitindo dizer que o efeito do produto em meio líquido foi acrescido.

Quanto ao Nutri-phite, o produto apresentou efeito distinto sobre o crescimento micelial dos fungos, inibindo até 84% o crescimento do micélio de *C. gloeosporioides*, enquanto que para *C. cassiicola*, o maior índice de inibição foi de apenas 25% (Tabela 5 e Figura 22), sendo inferior ao índice em meio sólido.

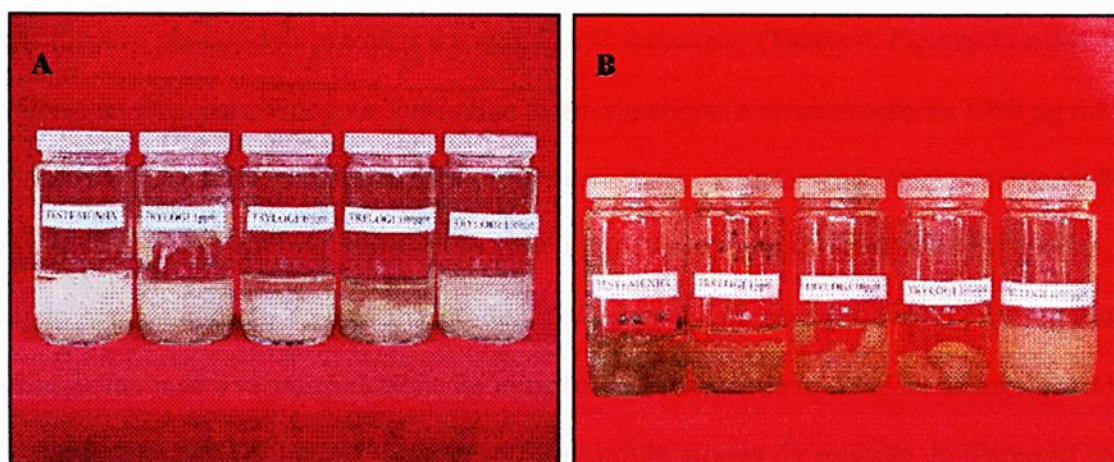


Figura 21. Efeito de Trilogy no crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* (A) e *Corynespora cassiicola* (B) em meio líquido. Ilha Solteira-SP, 2004.

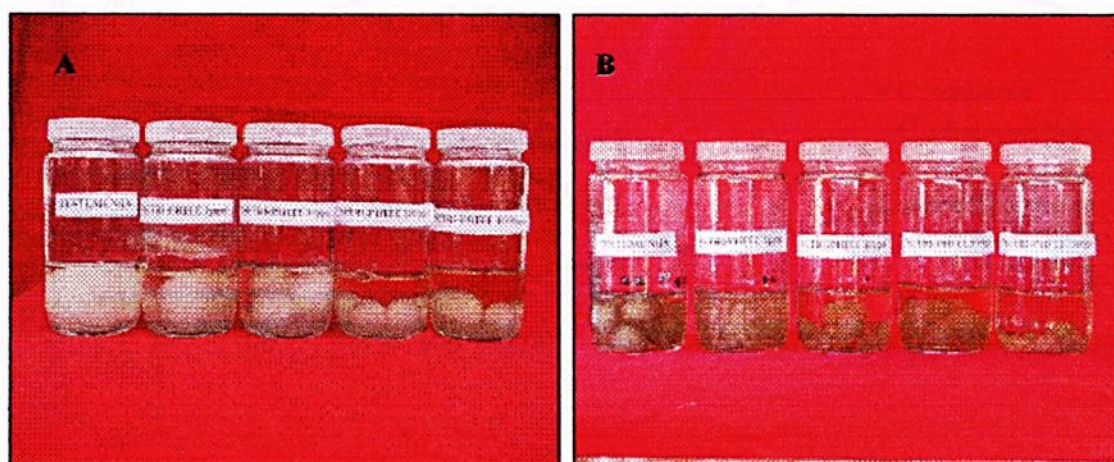


Figura 22. Efeito de Nutri-phite no crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* (A) e *Corynespora cassiicola* (B) em meio líquido. Ilha Solteira-SP, 2004.

Os produtos Trilogy e Nutri-phite apresentaram ajuste da equação de regressão significativo para as diferentes concentrações testadas (Figuras 23 e 24). O efeito linear foi significativo para os dois produtos em relação a *C. cassiicola* (Tabela 4; Figuras 23 e 24). Os valores de EC_{50} para Trilogy e Nutri-phite foram superiores a concentração de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$, indicando baixa capacidade antifúngica sobre esse fungo, e ainda nas menores concentrações dos dois produtos ocorreu estímulo do crescimento micelial de *C. cassiicola*. No entanto, o efeito sobre a inibição do crescimento de *C. gloeosporioides* foi significativo para regressão quadrática, onde a resposta máxima de inibição do crescimento micelial de Trilogy (94%) e Nutri-phite (123%) sobre o fitopatógeno foi estimada através da equação de regressão para dose de 409 e $716 \mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente (Figuras 21 e 22).

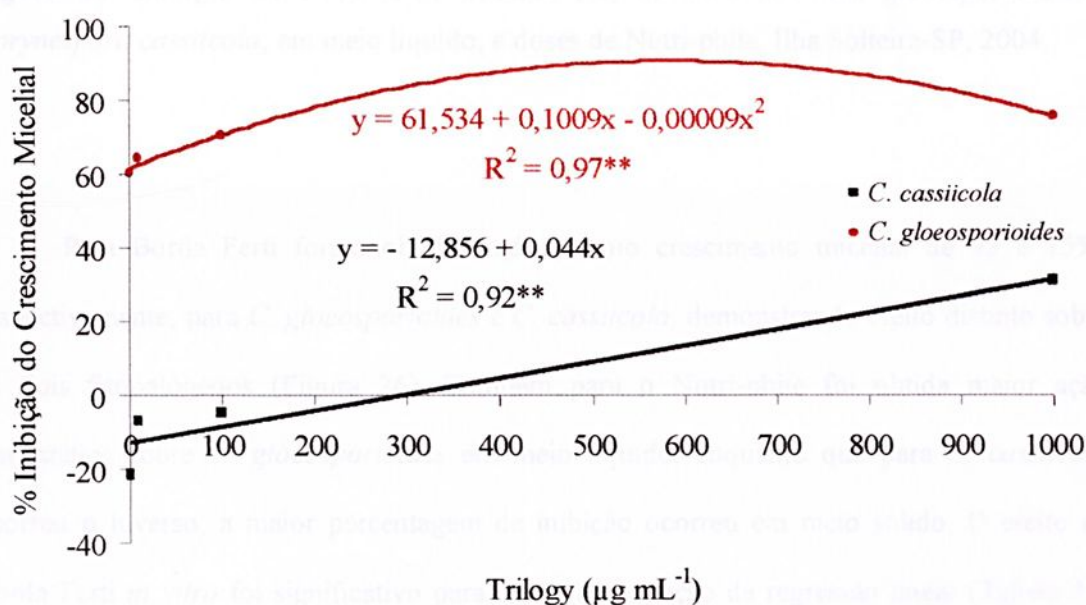


Figura 23. Inibição do crescimento micelial (%) de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Corynespora cassiicola*, em meio líquido, e doses de Trilogy. Ilha Solteira-SP, 2004.

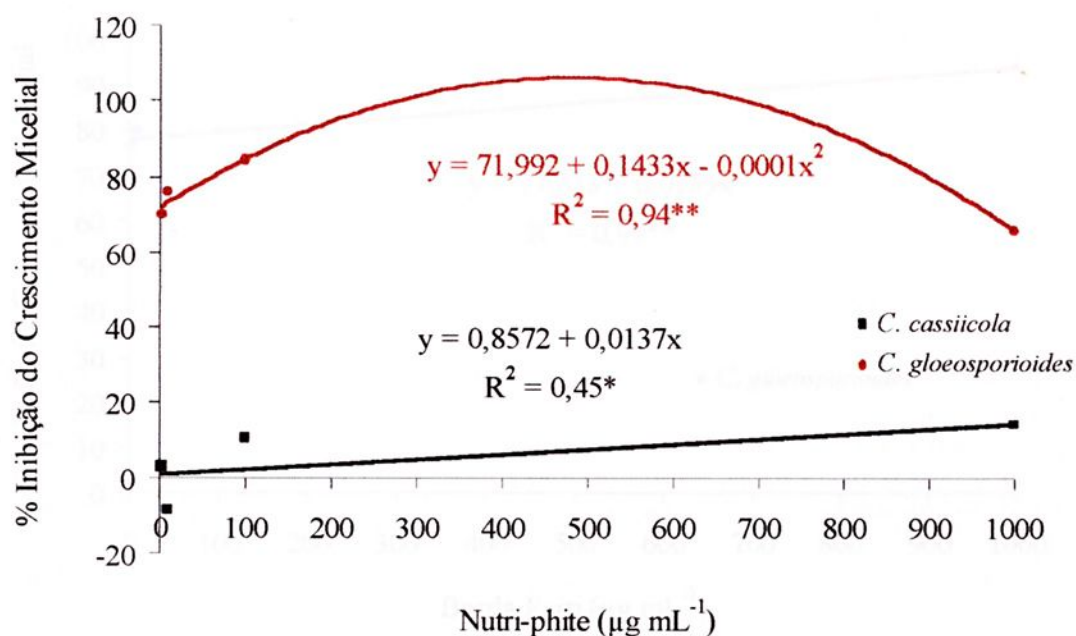


Figura 24. Inibição do crescimento micelial (%) de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio líquido, e doses de Nutri-phite.

Figura 24. Inibição do crescimento micelial (%) de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Corynespora cassiicola*, em meio líquido, e doses de Nutri-phite. Ilha Solteira-SP, 2004.

Para Borda Ferti foram obtidas reduções no crescimento micelial de 93 e 15%, respectivamente, para *C. gloeosporioides* e *C. cassiicola*, demonstrando efeito distinto sobre os dois fitopatógenos (Figura 26). Também para o Nutri-phite foi obtida maior ação fungistática sobre *C. gloeosporioides* em meio líquido, enquanto que para *C. cassiicola* ocorreu o inverso, a maior percentagem de inibição ocorreu em meio sólido. O efeito de Borda Ferti *in vitro* foi significativo para ajuste da equação de regressão linear (Tabela 3 e Figura 25) apenas para *C. gloeosporioides*, sendo que o valor estimado para EC_{50} ficou abaixo da menor concentração do produto (Tabela 3), indicando que em meio líquido o produto apresentou-se com maior fungitoxicidade sobre o fungo.

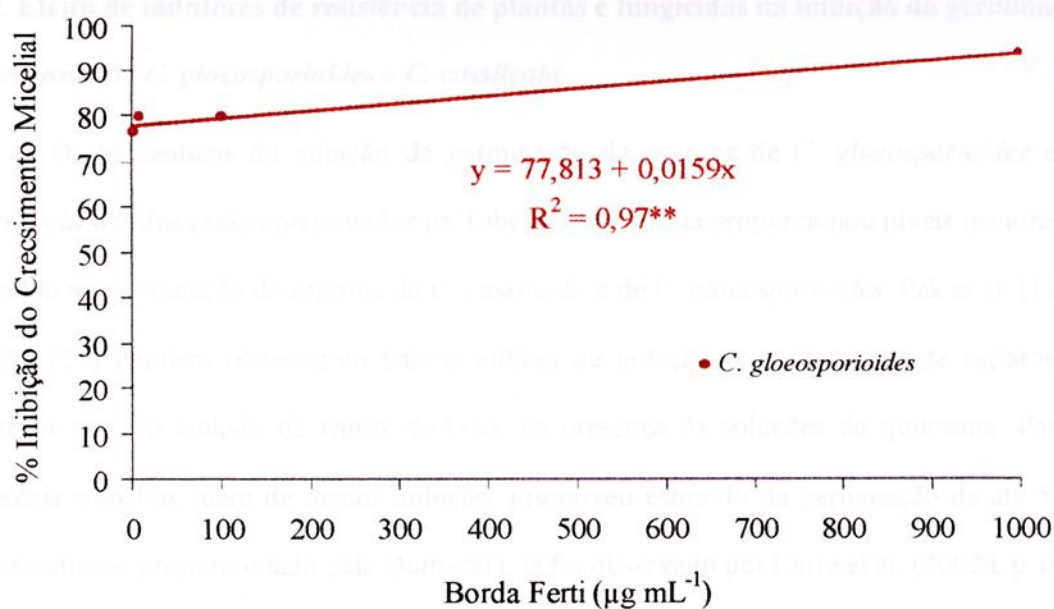


Figura 25. Inibição do crescimento micelial (%) de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio líquido, e doses de Borda Ferti. Ilha Solteira-SP, 2004.

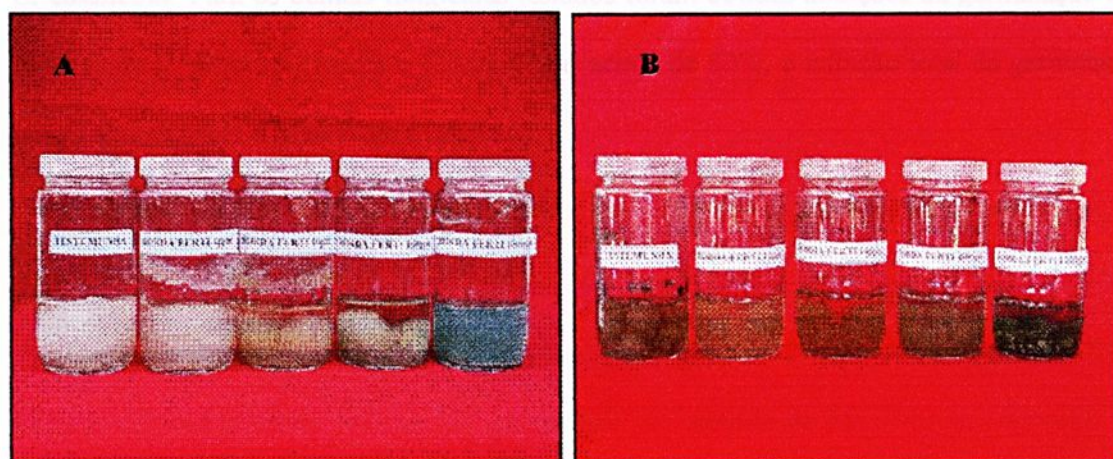


Figura 26. Efeito de Borda Ferti no crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* (A) e *Corynespora cassiicola* (B) em meio líquido. Ilha Solteira-SP, 2004.

5.3. Efeito de indutores de resistência de plantas e fungicidas na inibição da germinação de esporos de *C. gloeosporioides* e *C. cassicola*

Os percentuais de inibição da germinação de esporos de *C. gloeosporioides* e *C. cassicola* obtidos estão apresentados na Tabela 6. Quitosana proporcionou níveis menores de inibição na germinação de esporos de *C. cassicola* e de *C. gloeosporioides*. Pak et al. (1998, p.123-129) também observaram baixos índices de inibição na germinação de esporos de *Botrytis cinerea* isolado de frutos de kiwi, na presença de soluções de quitosana. Para o presente trabalho, além de menor inibição, promoveu estímulo da germinação de até 58%. Esse estímulo proporcionado pela Quitosana, já foi observado por Carré et al. (2002a, p.104), porém ocorreu para esporulação de *Colletotrichum musae* e em todas as concentrações de Quitosana utilizadas.

Azoxystrobin e Benomyl proporcionaram em média 80% de inibição na germinação dos esporos de *C. gloeosporioides* e média de 72% de inibição na germinação dos esporos de *C. cassicola*. Para os demais fungicidas testados foram obtidas inibições da germinação dos esporos de *C. gloeosporioides* e *C. cassicola* acima de 80%, e inibição total da germinação para Tebuconazole e Mancozeb (Tabela 6).

Tabela 6. Efeito de produtos indutores de resistência de plantas e fungicidas na germinação de esporos de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Corynespora cassiicola* *in vitro*. Ilha Solteira-SP, 2004.

Tratamento - $\mu\text{g mL}^{-1}$	% Inibição de Germinação de Esporos ¹	
	<i>C. gloeosporioides</i>	<i>C. cassiicola</i>
Acibenzolar-S-methyl - 1000	54,02 d ²	54,47 d
Azoxystrobin - 100	85,35 b	62,74 c
Benomyl - 100	76,44 c	81,79 b
Borda Ferti - 1000	88,47 b	100,00 a
Ecolife - 0,6 ³	100,00 a	100,00 a
Mancozeb - 100	100,00 a	100,00 a
Nutri-phite - 1000	79,78 c	45,32 e
Oxiclo. de Cobre - 100	86,82 b	97,09 a
Quitosana - 400	28,26 f	25,55 f
Tebuconazole - 100	100,00 a	100,00 a
Trilogy - 1000	45,07 e	16,26 f
DMS	3,63	4,70
CV(%)	4,95	7,32

¹Obtidos após 12 horas de incubação; ²Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo Teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade; ³Valor da dose em % i.a./mL.

O indutor Acibenzolar-S-methyl proporcionou índices de inibição da germinação de conídios de *C. gloeosporioides* e *C. cassiicola* semelhantes, em torno de 54% na maior concentração do produto. Resultados semelhantes foram relatados por Cardoso Filho (2003, 126p.), em que a maior inibição na germinação de esporos de *Phyllosticta citricarpa* foi observada para a maior concentração do produto. Pascholati et al. (1998, p.266-267), observaram que houve uma redução na germinação de conídios de *Colletotrichum graminicola*, com o aumento das concentrações do indutor de resistência. Os ajustes para as equações de regressões foram significativos para Acibenzolar-S-methyl, com efeito linear (Figura 27), e valores de DL₅₀ (Dose letal para inibir 50% da germinação dos esporos)

estimados em 906 e 907 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para *C. gloeosporioides* e *C. cassiicola* respectivamente (Tabela 7), permitindo indicar que o produto apresentou-se pouco fungitóxico, assemelhando-se aos ensaios de inibição do crescimento micelial dos fungos em questão.

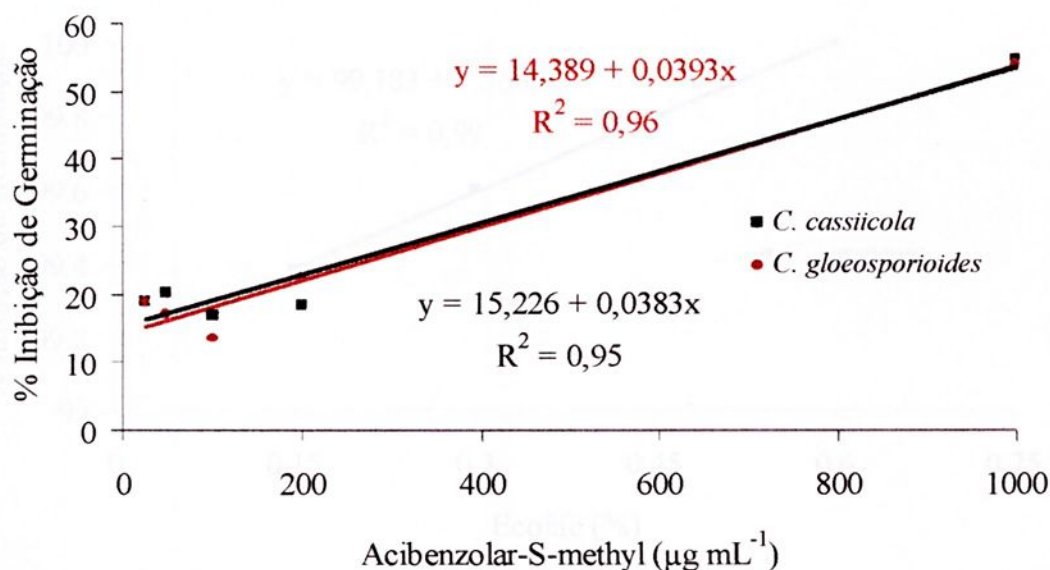


Figura 27. Inibição da germinação de esporos (%) de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Corynespora cassiicola*, e doses do indutor de resistência Acibenzolar-S-methyl. Ilha Solteira-SP, 2004.

O bioestimulante Ecolife⁴⁰, semelhante aos ensaios de inibição do crescimento micelial, inibiu completamente a germinação de esporos de *C. gloeosporioides* para todas as concentrações avaliadas (Tabela 6). Para *C. cassiicola*, 100% de inibição da germinação de esporos foi observada na dose 0,6% i.a./mL, com regressão linear significativa (Figura 28). A natureza fungistática do produto obtida pelo presente ensaio foi verificada por Motoyama et al. (2002a, p.103), que observaram efeito do produto sobre a germinação de esporos de *Colletotrichum lagenarium* e *Fusarium semitectum*. Mendonça et al. (2004b, p.86) e Toffano et al. (2004, p.118) também observaram ação fungistática de Ecolife⁴⁰ em avaliações *in vitro*

deste bioestimulante. Os valores estimados de DL_{50} para o produto ficaram abaixo da menor concentração de 0,15% i.a./mL, em relação aos dois fitopatógenos estudados, indicando alta capacidade fungistática do Ecolife⁴⁰ sobre os mesmos.

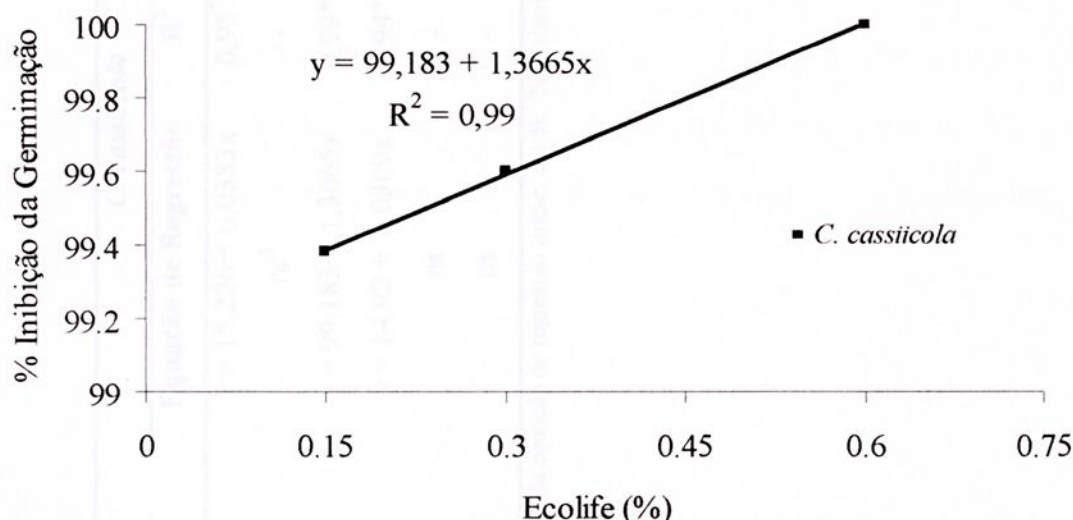


Figura 28. Inibição da germinação de esporos (%) de *Corynespora cassiicola*, e doses do bioestimulante Ecolife⁴⁰. Ilha Solteira-SP, 2004.

Os produtos Trilogy e Nutri-phite proporcionaram maior inibição na germinação dos esporos de *C. gloeosporioides*, com percentuais de 45 e 79% (Tabela 6). O valor de DL_{50} sobre a inibição da germinação de *C. gloeosporioides* para Trilogy foi estimado em $1278,27 \mu\text{g mL}^{-1}$, acima da maior dose testada, indicando pouca ação fungitóxica do produto. Para *C. cassiicola*, os percentuais de inibição da germinação, em função das concentrações dos dois produtos foram menores, sendo de 16% para a maior dose de Trilogy e de 45% para a maior dose de Nutri-phite, sendo que os dois produtos apresentaram valores de DL_{50} acima do valor da maior concentração (Figuras 29 e 30; Tabela 7). Os resultados de inibição da germinação dos dois produtos, corroboram com resultados obtidos para os ensaios de crescimento micelial, indicando baixa capacidade fungistática dos mesmos.

Tabela 7. Equações de regressão linear e dose letal (DL₅₀) para inibição de 50% da germinação de esporos de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Corynespora cassiicola*. Ilha Solteira-SP, 2004.

Tratamentos	<i>C. gloeosporioides</i>			<i>C. cassiicola</i>		
	Equação de Regressão	R ²	DL ₅₀	Equação de Regressão	R ²	DL ₅₀
Acibenzolar-S-methyl	$y = 14,389 + 0,0393x$	0,96*	906,13 ¹	$y = 15,226 + 0,0383x$	0,95*	907,93 ¹
Borda Ferti	ns ³	-	-	ns ³	-	-
Ecolife	ns	-	-	$y = 99,183 + 1,3665x$	0,99*	<0,15 ²
Nutri-phite	ns	-	-	$y = 14,92 + 0,0309x$	0,94*	1135,27
Quitosana	ns	-	-	ns	-	-
Trilogy	$y = 28,525 + 0,0168x$	0,94*	>1000	ns	-	-

¹Valores estimados a partir da equação de regressão linear, em µg mL⁻¹; ²Valores estimados a partir da equação de regressão linear, em %; ³Não significativo ao nível de 5% de probabilidade; *Significativo ao nível de 5% de probabilidade.



Os resultados obtidos para Borda Ferti (Tabela 6) indicam que o produto apresenta maior ação fungitóxica, pois os percentuais de inibição obtidos são de 88% para *C. gloeosporioides* e de 100% para *C. cassiicola*, não diferindo no último caso dos fungicidas testados. Não houve significância para ajuste de regressão (Tabela 7)

Os resultados indicando maior ação fungitóxica de Borda Ferti sobre a germinação de esporos, podem ser explicados pela composição a base de sulfato de cobre, conferindo ao produto ação protetora e preventiva típica de produtos cúpricos, os quais atuam sobre os esporos que possam ser depositados sobre a superfície, bem como sobre a germinação dos mesmos.

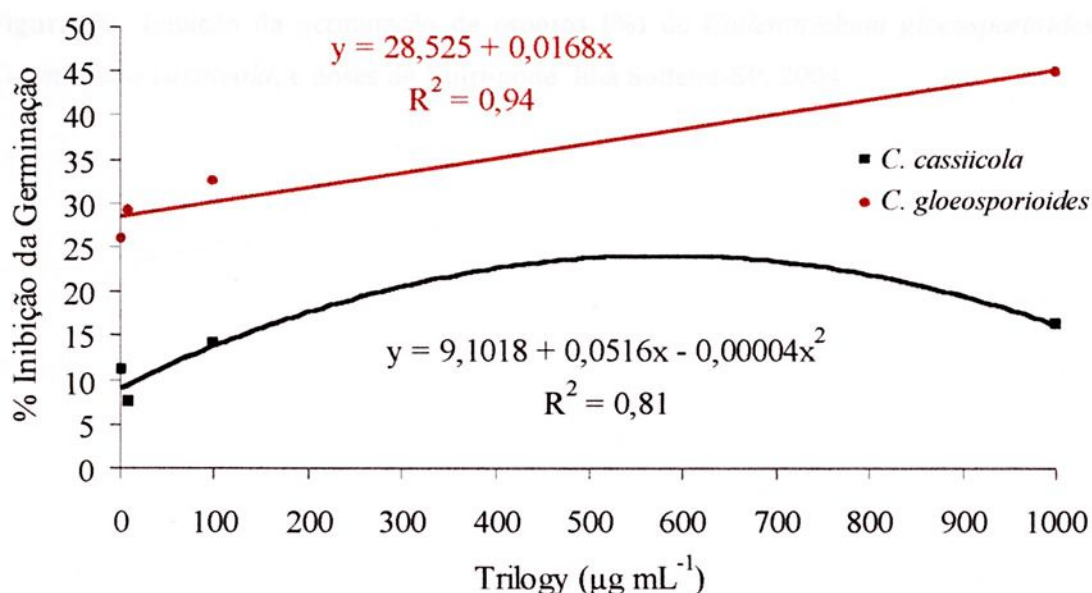


Figura 29. Inibição da germinação de esporos (%) de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Corynespora cassiicola*, e doses de Trilogy. Ilha Solteira-SP, 2004.

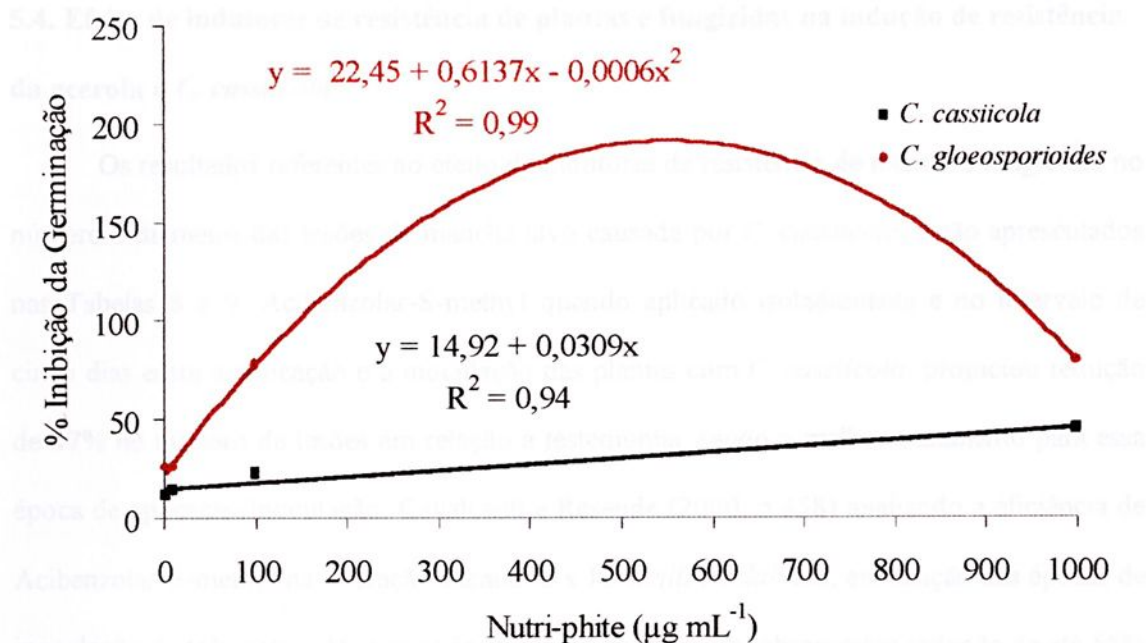


Figura 30. Inibição da germinação de esporos (%) de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Corynespora cassiicola*, e doses de Nutri-phite. Ilha Solteira-SP, 2004.

5.4. Efeito de indutores de resistência de plantas e fungicidas na indução de resistência da acerola a *C. cassiicola*

Os resultados referentes ao efeito de indutores de resistência de plantas e fungicidas no número e diâmetro das lesões de mancha alvo causada por *C. cassiicola*, estão apresentados nas Tabelas 8 e 9. Acibenzolar-S-methyl quando aplicado isoladamente e no intervalo de cinco dias entre a aplicação e a inoculação das plantas com *C. cassiicola*, propiciou redução de 47% no número de lesões em relação a testemunha, sendo o melhor tratamento para essa época de aplicação/inoculação. Cavalcanti e Resende (2000, p.458) avaliando a eficiência de Acibenzolar-S-methyl na interação cacaueiro x *Verticillium dahliae*, em função das épocas de inoculação de três, sete e 15 dias após aplicação do produto, observaram redução de até 55% para quinze dias. Esses resultados são parcialmente semelhantes aos obtidos no presente trabalho, evidenciando razoável eficiência de Acibenzolar-S-methyl como indutor de resistência.

A importância do intervalo de tempo entre aplicação e inoculação de fitopatógenos, também foi observada por Aguilar et al. (1998, p.220). Os autores avaliaram a resistência induzida em cacaueiro contra *Crinipellis perniciosa* por Acibenzolar-S-methyl, em aplicações de dois e sete dias antes da inoculação, e observaram que a segunda época foi mais eficiente, no sentido de proporcionar maior tempo para indução da resposta sistêmica, dificultando o desenvolvimento do patógeno. Peres et al. (2002, p.150) também observaram reduções significativas no desenvolvimento de sintomas de podridão floral em citros, causada por *Colletotrichum acutatum* pelo uso de Acibenzolar-S-methyl, em casa de vegetação.

Tabela 8. Número de lesões de *Corynespora cassiicola* desenvolvido em folha de acerola, inoculadas aos 0, 3 e 5 dias após o tratamento com os indutores de resistência e/ou fungicidas. Plantas mantidas em casa de vegetação. Ilha Solteira-SP, 2004.

Tratamento - g i.a. L ⁻¹	Inoculações					
	0 dias		3 dias		5 dias	
Testemunha ¹	1,76 ²	aA ³	1,49	abB	1,34	AB
Acibenzolar-S-methyl - 0,015	1,46	aA	1,46	aA	1,05	AbcB
Acibenzolar-S-methyl - 0,025	1,47	aA	1,37	aA	0,88	AbcB
Acibenzolar-S-methyl - 0,050	1,57	aA	1,02	abcB	0,70	CB
Quitosana - 100	1,46	aA	1,02	abcB	1,25	AbAB
Quitosana - 250	1,71	aA	1,02	abcB	1,25	AbB
Quitosana - 400	1,40	abA	0,96	abcB	0,96	AbcB
Benomyl - 0,5	0,70	dB	0,87	bcB	1,11	AbcA
Tebuconazole - 0,2	0,88	bcdA	1,28	abB	1,14	abcAB
Mancozeb - 2,0	0,79	cdA	1,13	abcA	1,11	AbcA
ASM-0,025 + Benomyl - 0,5	0,71	dA	0,88	bcA	0,88	AbcA
ASM-0,025 + Tebuconazole - 0,2	1,25	abcdA	1,11	abcB	0,96	AbcB
ASM-0,025 + Mancozeb - 2,0	0,79	cdA	0,96	abcA	0,88	AbcA
Quitosana-250 + Benomyl - 0,5	0,88	bcdA	0,88	bcA	1,05	AbcA
Quitosana-250 + Tebuconazole - 0,2	0,85	cdA	0,88	bcA	0,79	BcA
Quitosana-250 + Mancozeb - 2,0	0,79	cdB	0,72	cB	1,19	abcA
CV (%)	25,43					
DMS	0,545 ⁴		0,09 ⁵			

¹Água destilada + 1% de Tween 80; ²Médias transformadas em $\sqrt{x+0,5}$; ³Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo Teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade; ⁴DMS para coluna; ⁵DMS para linha.

O efeito protetor máximo de Acibenzolar-S-methyl na dose de 0,050 µg mL⁻¹ foi observado para o intervalo de cinco dias entre aplicação do produto e inoculação de *C. cassiicola*, havendo diferença significativa entre as épocas de inoculação tanto para o número de lesões (Tabela 8) como para o diâmetro das lesões (Tabela 9). As percentagens de redução no número e tamanho das lesões para o intervalo de cinco dias foram de 47 e 27%, respectivamente. Resultados semelhantes foram obtidos por Guzzo et al. (2002, p.74), que observaram o efeito protetor de Acibenzolar-S-methyl a partir do primeiro dia de aplicação do

indutor, porém a máxima proteção foi atingida para o intervalo de sete dias entre a aplicação e inoculação de *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. em plantas de café, caracterizando o efeito de indutor de resistência de plantas.

As misturas de Acibenzolar-S-methyl com os fungicidas Benomyl ou Mancozeb, proporcionaram menores números e tamanhos das lesões (Tabelas 8 e 9), diferindo significativamente da testemunha, e estas reduções foram maiores quando a inoculação foi realizada no mesmo dia da aplicação.

Observou-se também que as reduções ocorridas para as misturas de Acibenzolar-S-methyl ou Quitosana com os fungicidas, exceto para Acibenzolar-S-methyl + Tebuconazole, não diferiram dos tratamentos em que os fungicidas foram aplicados isoladamente e nem mesmo entre as épocas de inoculação. Esses resultados indicam que não ocorreu efeito de indução de resistência tanto sobre o número como para o tamanho das lesões (Tabelas 8 e 9). Se tivesse ocorrido indução de resistência mais a ação dos fungicidas teria se obtido número e tamanho de lesões menores que os obtidos apenas com os fungicidas, em função do sinergismo desses dois produtos.

A mistura de Acibenzolar-S-methyl com Tebuconazole, no entanto, apresentou diferença significativa entre as épocas de inoculação, sendo constatado maior efeito redutor sobre o número e tamanho das lesões para o intervalo de cinco dias entre aplicação e inoculação, sugerindo que houve uma resposta do indutor somada à ação do fungicida (Tabelas 8 e 9). Alguns trabalhos têm demonstrado a eficiência da mistura de Acibenzolar-S-methyl com fungicidas. Silva et al. (2003, p.244-248) observaram reduções significativas na severidade de mancha bacteriana (*Xanthomonas vesicatoria*) e *Oidium lycopersici* em tomateiro, pelo uso de Acibenzolar-S-methyl em mistura com Mancozeb. Resultados semelhantes também foram observados por Tófoli et al. (2002, p.90), em que essa mistura

apresentou comportamento intermediário no controle de *Alternaria solani* (Ell. & Mart.) Jones & Grout no tomateiro.

Os fungicidas Benomyl e Mancozeb, quando aplicados isoladamente, apresentaram maiores reduções no número e no tamanho de lesões sobre as inoculações realizadas a zero dias, diferindo da testemunha (Tabelas 8 e 9), sendo que Benomyl inibiu em 60% o aparecimento de lesões. Isto evidencia sua característica protetora e erradicante. Segundo Azevedo (2001, 230p.) o produto é sistêmico, no entanto pode ser considerado um fungicida de multiação porque atua nos estádios de pré e pós-infecção dos ciclos biológicos do patógeno, com ação protetora.

Observou-se que Benomyl e Tebuconazole apresentaram uma redução na ação sobre a incidência de lesões com o decorrer dos dias (Tabela 8), provavelmente degradaram na superfície da folha e diminuíram a eficiência.

Quitosana não diferiu estatisticamente da testemunha e nem mesmo entre as doses utilizadas, em relação ao número de lesões desenvolvidas (Tabela 8), porém apresentou diferença significativa entre as épocas de inoculação, propiciando maior inibição no desenvolvimento da doença, a partir do intervalo de três dias entre a aplicação do produto e inoculação de *C. cassicola*. Quando aplicada em mistura com os fungicidas, ocorreram reduções significativas no número de lesões, sendo em média reduções de 52% para inoculação em zero dias, e em média de 45% para inoculação aos três dias. A mistura com Tebuconazole foi a única que apresentou efeito para inoculação aos cinco dias, com redução no desenvolvimento de lesões em torno de 41% em relação à testemunha, porém não diferiu entre as épocas de inoculação.

Tabela 9. Diâmetro de lesões (mm) de *Corynespora cassiicola* desenvolvidas em folhas de acerola, inoculadas aos 0, 3 e 5 dias após o tratamento com os indutores de resistência e/ou fungicidas. Plantas mantidas em casa de vegetação. Ilha Solteira-SP, 2004.

Tratamento - g i.a. L ⁻¹	Inoculações					
	0 dias		3 dias		5 dias	
Testemunha ¹	1,34 ²	aA ³	1,06	aB	0,95	aC
Acibenzolar-S-methyl - 0,015	1,21	abA	0,94	abB	0,85	aC
Acibenzolar-S-methyl - 0,025	1,04	abcA	0,90	abB	0,71	aC
Acibenzolar-S-methyl - 0,050	1,02	abcdA	0,85	abB	0,70	aC
Quitosana - 100	1,25	abA	0,87	abB	0,75	aC
Quitosana - 250	1,25	abA	0,81	abB	0,75	aB
Quitosana - 400	0,97	bcdA	0,72	bB	0,71	aB
Benomyl - 0,5	0,71	dA	0,72	bA	0,78	aA
Tebuconazole - 0,2	0,87	cdA	0,74	abA	0,72	aA
Mancozeb - 2,0	0,71	dA	0,72	bA	0,72	aA
ASM-0,025 + Benomyl - 0,5	0,71	dA	0,72	bA	0,71	aA
ASM-0,025 + Tebuconazole - 0,2	0,99	bcdA	0,74	abB	0,72	aB
ASM-0,025 + Mancozeb - 2,0	0,71	dA	0,72	bA	0,72	aA
Quitosana-250 + Benomyl - 0,5	0,72	cdA	0,87	abA	0,72	aA
Quitosana-250 + Tebuconazole - 0,2	0,78	cdA	0,76	abA	0,71	aA
Quitosana-250 + Mancozeb - 2,0	0,71	dA	0,71	bA	0,77	aA
CV (%)	19,82					
DMS	0,324 ⁴		0,05 ⁵			

¹Água destilada + 1% de Tween 80; ²Médias transformadas em $\sqrt{x+0,5}$; ³Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo Teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade; ⁴DMS para coluna; ⁵DMS para linha.

Em relação ao tamanho das lesões (Tabela 9), as soluções de Quitosana proporcionaram redução significativa apenas para concentração de 400 µg mL⁻¹, com percentuais de 27 e 32% para inoculações aos zero e três dias, respectivamente.

Os resultados obtidos para as soluções de Quitosana, no presente trabalho, assemelham-se ao estudo realizado por Pak et al. (1998, p.123-129). Os autores relatam que a Quitosana apresentou pouca efetividade como indutora de resistência em frutos de kiwi

inoculados com *Botrytis cinerea*. Por outro lado estudos realizados por Falcón et al. (2002, p.61-66), demonstraram atividade de indutora de resistência de Quitosana nas concentrações de 50 a 500 mg mL⁻¹, principalmente para concentrações mais elevadas, protegendo plantas de fumo a *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* (Dast.). Segundo Cao e Forrer (2001, p.1-10) a Quitosana é reportada como eficiente indutor de resistência a patógenos de feijoeiro, tomateiro e ervilha, porém ao testarem contra *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary, pulverizando folhas de plantas de batata, a Quitosana não apresentou efeito indutor.

Com os resultados obtidos no presente trabalho sugere-se que sejam realizados outros estudos com doses mais elevadas de Quitosana e Acibenzolar-S-methyl para interação *C. cassicola* x acerola.

Outro aspecto observado com os resultados, é que tanto o número como o tamanho de lesões dos tratamentos controle, tiveram uma redução com o decorrer das épocas de inoculação (Tabelas 8 e 9). Esse fato pode ser atribuído a ocorrência de temperaturas relativamente baixas no período de realização dos ensaios *in vivo*, sendo constatada mínima de até 9 °C no interior da casa de vegetação. Segundo Rodrigues et al. (2004, p.122), a temperatura de 25 °C proporcionou os melhores índices de crescimento micelial, produção e germinação de esporos de *C. cassicola*, sendo que temperaturas abaixo de 15 °C inibiram o desenvolvimento normal do fitopatógeno.

Não foram observados sintomas de fitotoxidez para os produtos e doses testadas no ensaio *in vivo*. Podendo considerar como um resultado favorável a posteriores pesquisas, as quais avaliem os produtos em um maior número de doses e com diferentes intervalos entre aplicação e inoculações, permitindo observar o limite de dose que possa ser utilizado sem ser tóxico a planta, bem como para obter a concentração mais eficiente no controle da doença e qual a duração do efeito indutor/protetor dos indutores de resistência de plantas.



6. CONSIDERAÇÕES GERAIS

O presente trabalho foi realizado considerando que a cultura da acerola encontra-se em expansão, o Brasil é o maior produtor e exportador do mundo e a região de Junqueirópolis, maior produtora de acerola do estado de São Paulo. Nesta região vem ocorrendo *C. gloeosporioides* e *C. cassiicola* causando desfolha precoce e redução na produção, segundo os produtores. Por esses aspectos é de fundamental importância a busca por produtos que apresentem eficácia no controle de *C. gloeosporioides* e *C. cassiicola*, uma vez que não existem produtos registrados para uso no controle da antracnose e mancha alvo da acerola e os produtores começam a utilizar produtos registrados para outras culturas.

Ainda deve-se levar em consideração aspectos como: a dificuldade de controlar estes fitopatógenos; a não existência de produtos registrados para a cultura da acerola e por boa parte da produção ser destinada para mercados externos, exigentes quanto a resíduos de agrotóxicos. Associa-se a isto que na acerola o período entre a floração e frutificação é relativamente curto, ao redor de 22 dias, com duas a três colheitas por semana, durante oito meses do ano, dificultando o manejo das doenças.

De acordo com os resultados obtidos para os ensaios *in vitro* no presente trabalho, Acibenzolar-S-methyl, as soluções de Quitosana, Trilogy e Nutri-phite podem ser classificados como produtos de pouca ação fungitóxica sobre o crescimento micelial e a germinação de esporos de *C. gloeosporioides* e *C. cassiicola*. Assim, há necessidade de ensaios *in vivo* para avaliar a potencialidade de Trilogy e Nutri-phite como indutores de resistência. Por outro lado, Ecolife⁴⁰, Borda Ferti (exceção para *C. cassiicola*) e os fungicidas

testados apresentaram ação fungitóxica sobre os fungos, sendo potencialmente viáveis para o controle de *C. gloeosporioides* e *C. cassiicola* da acerola.

Quanto aos ensaios *in vivo*, pode-se considerar que Acibenzolar-S-methyl e Quitosana apresentaram razoável potencialidade como indutores de resistência em acerola contra *C. cassiicola*, havendo a necessidade da realização de novos ensaios em que os produtos sejam avaliados em condições ambientais mais favoráveis para o desenvolvimento da doença, uso de doses maiores, em condições de campo e ainda com análises de resíduos nos frutos.



7. CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos pode-se concluir que:

- Os fungicidas apresentaram capacidade antifúngica sobre *C. gloeosporioides* e *C. cassiicola* em todos os ensaios *in vitro*;
- Benomyl, Mancozeb, Tebuconazole foram os fungicidas que apresentaram maior ação fungitóxica sobre *C. gloeosporioides* e *C. cassiicola*;
- O indutor de resistência Acibenzolar-S-methyl apresentou menor capacidade antifúngica sobre *C. gloeosporioides* e *C. cassiicola*, para o ensaio em meio de cultivo sólido e inibição da germinação, e maior para o ensaio de inibição do crescimento micelial em meio líquido;
- As soluções de Quitosana apresentaram-se pouco fungitóxicas para todos os experimentos *in vitro*;
- O bioestimulante Ecolife⁴⁰ apresentou capacidade antifúngica sobre *C. gloeosporioides* e *C. cassiicola* em todos os ensaios *in vitro* realizados;
- Os produtos Trilogy e Nutri-phite apresentaram-se pouco fungitóxicos sobre *C. gloeosporioides* e *C. cassiicola* em todos os ensaios *in vitro*;
- O produto Borda Ferti apresentou maior fungitoxicidade sobre *C. gloeosporioides*, e para *C. cassiicola* inibiu a germinação de esporos;
- Acibenzolar-S-methyl apresentou razoável eficiência na indução de resistência em acerola a *C. cassiicola*;
- As soluções de Quitosana apresentaram pouca ação como indutor de resistência em acerola a *C. cassiicola*.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEAS – Especialização por tutoria à distância – Curso de Proteção de Plantas - Módulo 7, ABEAS/UFV, Brasília – DF. p.1-15. 2001.

AGUILAR, M. A. G.; RESENDE, M. L. V.; BEZERRA, K. M. T. Resistência induzida em cacaueteiro contra *Crinipellis pernicioso* pelo Plant activador. **Fitopatologia Brasileira**, v.23 (Suplemento), p.220, 1998.

AGUILAR-VILDOSO, C. I.; RIBEIRO, J. L.; AZEVEDO, J. L. Sensibilidade *in vitro* de *Guignardia citricarpa* ao benomyl. **Summa Phytopathologica**, v.25, n.1, p.28, 1999.

ALMEIDA, A. M. R.; MACHADO, C. C.; FERREIRA, L. P.; LEHMAN, P. S. Ocorrência de *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt.) Wei no Estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, p.111-112, Junho, 1976.

ALMEIDA, F. A.; ARAÚJO, E.; GONÇALVES JR., H. Incidência e severidade de doenças fúngicas da acerola (*Malpighia glabra* L.) em áreas de cultivo do Estado da Paraíba. CCA/UFPE, Caixa Postal 42, Areia, PE. 1998. 24p.

ALMEIDA, F. A.; ARAÚJO, E.; GONÇALVES JR., H.; BARRETO, A. F.; CARVALHO, R. A. G.; Diagnóstico e quantificação de doenças fúngicas da acerola no Estado da Paraíba. **Fitopatologia Brasileira**, v.24, n.2, p.176-179, 2003.

ALVES, R. E.; MENEZES, J. B.; SILVA, S. M. Colheita e pós-colheita de acerola. In: SÃO JOSÉ, A. R.; ALVES, R. E. (Eds.). **Acerola no Brasil: produção e mercado**. Vitória da Conquista – BA. DFZ/UESE, p.77-89, 1995.

ANFOKA, G.H. Benzo-(1,2,3)-thiadiazole-7-carbothioic acid methyl Ester induces systemic resistance in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. Cv. Vollendung) to *Cucumber mosaic virus*. **Crop protection**, Oxford, v.19, n.6, p.401-405, 2000.

ARAÚJO, P. S. R.; MINAMI, R. Acerola. Campinas: **Fundação Cargil**, 1994, 81p.

ATHAYDE SOBRINHO, A. Ocorrência de antracnose em acerola (*Malpighia glabra* L.) no Estado do Piauí. **Fitopatologia Brasileira**, v.22 (Suplemento), p.245, 1997.



AZEVEDO, L. A. S. de. **Proteção integrada de plantas com fungicidas: teoria , prática e manejo.** São Paulo, 2001. 230p

AZEVEDO, L. A. S. de. **Fungicidas protetores: fundamentos para o uso racional.** São Paulo, 2003. 319p.

BARBOZA, S. B. S. C.; TAVARES, E. D.; MELO, M. B. Instruções para o cultivo da acerola. **Circular Técnica – EMBRAPA-CPATC.** Aracaju, 1996. 42p.

BEDENDO, I. P. Ambiente e doença. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de Fitopatologia – Princípios e conceitos.** v.1. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, p.331-341.1995.

BELL, A. A.; HUBBARD, J. C.; LIU, L. Effects of Chitin and Chitosan on the incidence and severity of Fusarium Yellows of celery. **Plant Disease**, v.82, n.3, p.322-328. 1998.

BENHAMOU, N. Ultrastructural and cytochemical aspects of chitosan on *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*, agent of tomato crown and root rot. **Phytopathology**, v.82, p.1185-1193, 1992.

BENSIMON, C. Ojo al kiwi: llega la *Malpighia puniceifolia*. **Ceres**, Roma, v.23, n.6, p.9-10, 1991.

BETTIOL, W. (Ed.). **Controle Biológico de Doenças de Plantas.** Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991. 388p. (EMBRAPA-CNPDA. Documentos, 15).

BIAGRO. Nutri-phite fertilizer – Chemical Differences. Disponível em: http://www.biagro.com/nutri_phite/np_html/np_content_intro.htm. Acesso em: 25/05/2004.

BION: O ativador de plantas. **Syngenta:** São Paulo, 2001. 20p (Folder).

BONETI, J. I. S.; KATSURAYAMA, Y.; DUCROQUET, J. P. H. J. Variabilidade de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* associados com a antracnose da goiabeira serrana (*Feijoa sellowiana*). **Fitopatologia Brasileira**, v.25 (Suplemento), p.360, 2000.

BORDA FERTI: Fertilizante foliar. **BCS OKO – Garantie Brasil:** São Paulo, 2004. 3p (Folder).

BUONAURIO, R.; SCARPONI, L.; FERRARA, M.; SIDOTI, P.; BERTONA, A. Induction of systemic acquired resistance in pepper plants by acibenzolar-S-methyl agaisnt bacterial spot disease. **European Journal of Plant Pathology**, v.108, p.41-49, 2002.

CAO, K.; FORRER, H. R.; Corruent status and prosperity on biological control of potato late blight (*Phytophthora infestans*). **Journal of Agricultural University of Hebei**, p.1-10, 2001.

CARDOSO FILHO, J. A. Efeito de extratos de albedo de laranja (*Citrus sinensis*) dos indutores de resistência Ácido salicílico, Acibenzolar-S-metil e *Saccharomyces cerevisiae* no controle de *Phyllosticta citricarpa* (Telemorfo: *Guignardia citricarpa*). 2003. 126p. (Tese Doutorado em Agronomia – Microbiologia Agrícola) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, Piracicaba.

CARNEIRO, S. M. de T. P. G. Ação do nim sobre fungos fitopatogênicos. In: MARTINEZ, S. S. **O Nim – *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção**. Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná, p.59-64, 2002.

CARNEIRO, S. M. de T. P. G. Efeito de extratos de folhas e do óleo de nim sobre o oídio do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v.29, n.3, p.262-265, 2003.

CARRÉ, V.; FRANZENER, G.; STANGARLIN, J. R.; GONÇALVES JR., A. C.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Crescimento micelial e esporulação de *Colletotrichum musae* na presença de quitosana e extrato de *Artemisia camphorata*. **Summa Phytopathologica**, v.28, p.104, 2002a.

CARRÉ, V.; ZANELLA, A. L.; BECKER, A.; STANGARLIN, J. R.; PAGLIOSA, L. A.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; GONÇALVES JR., A. C. Fungitoxicidade de quitosana e extrato de *Artemisia camphorata* a *Colletotrichum musae*. **Fitopatologia Brasileira**, v.27 (Suplemento), p.91, 2002b.

CASTRO, C. S.; RIOS, G. P.; NEVES, B. P. Eficiência do Ecolife⁴⁰ no controle da ferrugem do feijoeiro. In: **ECOLIFE⁴⁰: estimulando as plantas a produzir suas próprias defesas**. Quinabra: São José dos Campos – SP, p.13-14. 2003. (Folder)

CAVALCANTI, L. S.; RESENDE, M. L. V. Efeito da época de aplicação e dosagem de Benzotiadiazole na indução de resistência a *Verticillium dahliae* em plântulas de cacauero. **Fitopatologia Brasileira**, v.25(Suplemento), p.458, 2000.

CHÁVEZ, J. Utilización de matrices poliméricas de quitosana para liberación controlada de agroquímicos. Disponível em: <http://www.pucp.edu.pe/invest/grupos/polycom/proy-quitosan.htm> Acesso em 10/10/2002.

CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; BENATO, E.; CAMILI, E.; SANTOS, C. Avaliação de acibenzolar-S-metil na proteção pós-colheita de mamão contra a antracnose. **Summa Phytopathologica**, v.30, n.1, p.100, 2004.

COOK, R.J.; BAKER, K.F. **The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens**. St. Paul: APS Press, 1983. 539p.



CUNHA, M. M. da; COUTINHO, C. de C.; JUNQUEIRA, N. T. V.; FERREIRA, F. R. Transporte e comercialização. **Manga para exportação: aspectos fitossanitários**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1995. p.47-50.

CUTRIM, F. A.; SILVA, G. S. Patogenicidade de *Corynespora cassiicola* a diferentes espécies de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, n.2, p.193-194, 2003.

DA SILVA, G. S.; RODRIGUES, A. A. C.; SORES JR., A. C. Mancha de *Corynespora* em acerola (*Malpighia glabra*). **Fitopatologia Brasileira**, v.22, n.3, p.452, 1997.

DALLA PRIA, M.; CANTERI, M. G.; VENANCIO, W. S.; PAIVA, S. Efeito de azoxystrobin no controle da ferrugem do alho (*Puccinia porri*). **Fitopatologia Brasileira**, v.23 (Suplemento), p.237, 1998.

ECOLIFE⁴⁰: estimulando as plantas a produzir suas próprias defesas. **Quinabra**: São José dos Campos – SP, 19p. 2003. (Folder)

EDGINTON, L. V.; KNEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of bendamidazoles compounds. **Phytopathology**, v.68, p.42-44, 1971.

EL GHAOUTH, A.; ARUL, J.; ASSELIN, A.; BENHAMOU, N. Antifungal activity of chitosan on post-harvest pathogens: induction of morphological and cytological alterations in *Rhizopus stolonifer*. **Mycological Research**, v.96, p.769-779, 1992a.

EL GHAOUTH, A.; ARUL, J.; GRENIER, J.; ASSELIN, A. Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. **Phytopathology**, v.82, p.398-402, 1992b.

EL GHAOUTH, A.; ARUL, J.; GRENIER, J.; ASSELIN, A. Effect of chitosan and other polyions of chitin deacetylase in *Rhizopus stolonifer*. **Experimental Mycologi**, v.16, p.173-177, 1992c.

EL GHAOUTH, A.; ARUL, J.; GRENIER, J.; BENHAMOU, N.; ASSELIN, A.; BÉLANGER, R. Effect of chitosan on cucumber plants: supression of *Pythium aphanidermatum* and induction of defense reactions. **Phytopathology**, v.84, p.313-320, 1994.

FALCÓN, A. B.; RAMÍREZ, M. A.; MÁRQUEZ, R.; HERNÁNDEZ, M. Chitosan and its hydrolysate at tobacco-*Phytophthora parasitica* interaction. **Cultivos Tropicales**, v.23, n.1, p.61-66, 2002.

FREIRE, F. C. O. Doenças da acerola no Brasil. In: SÃO JOSÉ, A. R.; ALVES, R. E. **Acerola no Brasil: produção e mercado**. Vitória da Conquista: DFZ/UESE, p.71-76. 1995.

FREIRE, F. C. O.; CARDOSO, J. E.; CALVANCANTE, M. J. B. Doenças da acerola *Malpighia glabra* L. no Brasil. In: 13º CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, Salvador, 1994. **Resumos**. Salvador, SBF, 1994. 326p.

GALLI, M. A.; SALVO, S.; MARTINHO, L. Eficiência do fungicida sistêmico tebuconazole no controle da verrugose na cultura do maracujá. **Summa Phytopathologica**, v.24, n.1, p.59, 1998.

GASPAROTTO, L.; FERREIRA, F. A.; JUNQUEIRA, N. T. V. Mancha de *Corynespora* em folhas de seringueira (*Hevea brasiliensis*) no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v.13, n.3, p.272-280, 1988.

GASPAROTO, L.; PEREIRA, J. C. R.; PEREIRA, M. C. M.; COSTA, M. M. Efeito do Ecolife⁴⁰ no controle da sigatoka negra da bananeira. In: **ECOLIFE⁴⁰: estimulando as plantas a produzir suas próprias defesas**. Quinabra: São José dos Campos – SP, p.15. 2003. (Folder)

GONÇALVES JR., A. C. Estudos de equilíbrio de seletividade de um trocador aniônico a base de quitosana e sua aplicabilidade para extração de fósforo disponível em solos. Florianópolis. 120p. 2002. (Tese Doutorado) Universidade Federal de Santa Catarina.

GRACÉN, J.; GRACÉN, I. Quitina y quitosano. Nuevos materiales textiles. **Boletín Intexter**, n.10, p.67-71, 1996.

GREGORINE, G. F.; GOES, A.; REIS, R. F. Efeito de Oxicleto de cobre, isoladamente ou combinado com Mancozeb e antibióticos. In: XXIII CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA – VI Reunião de Controle Biológico de Doenças de Plantas. **Programa de Resumos**, Campinas, p.276, 2000.

GUZZO, S. D.; LUCON, C. M. M.; HARAKAVA, R.; TSAI, S. M. Atividade de quitinase e β -1,3-Glucanase induzida em cafeeiros protegidos contra *Hemileia vastatrix* pelo tratamento com acibenzolar-S-methyl. **Summa Phytopathologica**, v.28, n.1, p.74, 2002.

HANADA, R. E.; GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J. C. R. Eficiência de desinfetantes na erradicação de conídios de *Mycosphaerella fijiensis* aderidos à superfície de bananas. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.1, p.94-96, 2004.

IAMAMOTO, M. M.; GOES, A.; PANIZZI, R. de C.; ATHAYDE, M. L. F.; NASCIMENTO JR., A.; GUERREIRO, L. R. R. Eficiência de fungicidas na inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, agente causal da ramulose do algodoeiro. **Summa Phytopathologica**, v.24, n.1, p.73, 1998.

ITO, M. F.; CASTRO, J. L.; SANTINI, A.; RAVAGNANI, S. Controle da antracnose e mancha angular do feijoeiro pelas associações de tebuconazole e outros fungicidas. **Summa Phytopathologica**, v.25, n.1, p.44-45, 1999.

JAYME, B. O.; CASTRO, C. S.; RIOS, G. P.; NEVES, B. P. Eficiência do Ecolife⁴⁰ no controle Do oídio (*Erysiphe polygoni*) do feijoeiro. In: **ECOLIFE⁴⁰: estimulando as plantas**

a produzir suas próprias defesas. Quinabra: São José dos Campos – SP, p.14. 2003. (Folder)

JUNQUEIRA, N. T. V.; RAMOS, V. H. V.; OLIVEIRA, M. A. S. Doenças da acerola e de seus frutos nos Cerrados da Região Centro Oeste e Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira**, v.21 (Suplemento), n.3, p.387, 1996.

JUNQUEIRA, N. T. V. Doenças e pragas da acerola. In: MANICA, I.; ICUMA, I. M.; FIORAVANÇO, J. C. (Eds.). **Acerola: tecnologia de produção, pós-colheita, congelamento, exportação, mercados.** Porto Alegre – RS, Ed. Cinco Continentes, 2003. 397p.

KAWAMURA, Y.; MITSUHASHI, M.; TANIBE, H. Adsorption of metalions on polyaminated highly porous chitosan chelating resin. **Ind. Eng. Chem. Res.**, v.32, n.2, p.386-391, 1993.

KENDRA, F. D.; CHRISTIAN, D.; HADWIGER, L.A. Chitosan oligomers from *Fusarium solani*/pea interactions, chitinase/ β -glucanase digestion of sporelings and from fungal wall chitin actively inhibit fungal growth and enhance disease resistance. **Physiological Molecular Plant Pathology**, v.35, p.215-230, 1989.

KONRAD, M. **Efeito de sistemas de irrigação localizada sobre a produção e qualidade da acerola (*Malpighia* spp.) na região da Nova Alta Paulista.** Ilha Solteira, 2002. 119p. Tese (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Engenharia – Campus de Ilha Solteira -SP.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas.** v. 2. São Paulo, Editora Agronômica Ceres. 1997. 919p.

LADEIRA, M. C. G.; MOREIRA, A. J. A.; MAFFIA, L. A. Patogenicidade de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* a diferentes hospedeiros. **Fitopatologia Brasileira**, v.25 (Suplemento), p.384, 2000.

LEITE, R. S. V.; BARRETO, R. W. Mancha foliar de Hortência (*Hydrangea* sp.) causada por *Corynespora cassiicola*. **Fitopatologia Brasileira**, v.22 (Suplemento), p.276, 1997.

LEITE, D. T.S.; NOGUEIRA, N. L.; ROSSI, M. L.; DASILVA, A. C. Efeito no crescimento micelial *in vitro* do fungo *Colletotrichum musae* na presença dos fungicidas benomyl, tiofanato metílico, propiconazole e thiabendazole. **Summa Phytopathologica**, v.27, n.1, p.122, 2001.

LEROY, M.; LOURD, M. Doença foliar do tomateiro causada por *Corynespora cassiicola* em Manaus. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.14, n.1, p.32-36, 1989.

LOPES, M. E. B. M.; SINIGAGLIA, C.; AZEVEDO FILHO, J. A. Controle químico da mancha zonada (*Leandria momordicae*) em pepino. **Fitopatologia Brasileira**, v.23 (Suplemento), p.253, 1998.

LOPEZ, A. M. Q. Doenças de anonáceas e do urucuzeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Eds.). **Manual de Fitopatologia – Doenças das Plantas Cultivadas**. v. 2. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, p.79-84.1997.

MATHUR, N. K.; NARANG, C. K. Chitin and chitosan, versatile polysaccharides from marine animals. **J. Chem. Educ.** V. 67, n. 11, p. 938-942, 1990.

MATOS, E. C. **Caracterização morfológica, patogênica, molecular e sensibilidade a fungicidas de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. Agente causal da antracnose da mangueira (*Mangifera indica* L.).** 2003. 50p. Tese (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Engenharia – Campus de Ilha Solteira - SP.

MATOS, E. C.; PAPA, M. F. S. Sensibilidade de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* da mangueira a fungicidas. **Summa Phytopathologica**, v.30, n.1, p.123, 2004.

MARINI, F. S.; BARRETO, R. W. Ocorrência de *Colletotrichum gloeosporioides* em *Anthurium andraeanum* Lin. **Fitopatologia Brasileira**, v.25 (Suplemento), p.391, 2000.

MELLO, M. B. A.; MASSOLA JR, N. S. Caracterização patogênica, isoenzimática e sensibilidade a benomyl de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* de hortaliças solanáceas. **Summa Phytopathologica**, v.30, n.1, p.73, 2004.

MENDONÇA, H. L.; ROMEIRO, R. S.; PISA, J. L.; GARCIA, F. A. O. Controle experimental da mancha bacteriana pequena do tomateiro (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) pelo uso de bioestimulante comercial. **Summa Phytopathologica**, v.30, n.1, p.85, 2004a.

MENDONÇA, H. L.; ROMEIRO, R. S.; PISA, J. L.; VIEIRA JUNIOR, J. R. Inibição do crescimento de patógenos fúngicos do tomateiro por um bioestimulante comercial. **Summa Phytopathologica**, v.30, n.1, p.86, 2004b.

MENDONÇA, H. L.; ROMEIRO, R. S.; PISA, J. L.; NEVES, D. M. S. Atividade antibacteriana de um bioestimulante comercial de plantas. **Summa Phytopathologica**, v.30, n.1, p.86, 2004c.

MENEZES, M. Doenças do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Eds.). **Manual de Fitopatologia – Doenças das Plantas Cultivadas**. v.2. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, p.201-206. 1997.



MOMESSO, L.; REIS, R. F. dos; BRAZ, B. A.; GOES, A.; MORETTO, K. C. K. Avaliação da eficiência de azoxystrobin 500 WG, em diferentes doses, no controle da verrugose dos citros. **Summa Phytopathologica**, v.28, n.1, p.81, 2002.

MOREIRA, W. A.; LOPES, D. B.; BARBOSA, F. R. Eficiência de fungicidas no controle de fungos que depreciam a qualidade de frutos de manga. **Fitopatologia Brasileira**, v.27 (Suplemento), p.222, 2002.

MOTOYAMA, M. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; TESSMANN, D. J.; STANGARLIN, J. R.; FIORI, A. C. G. Atividade antifúngica e indução de deoxiantocianidinas em sorgo por extratos cítricos. **Summa Phytopathologica**, v.28, n.1, p.103, 2002a.

MOTOYAMA, M. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; TESSMANN, D. J.; STANGARLIN, J. R.; FIORI, A. C. G. Atividade antibacteriana e indução de gliocelinas em soja por extratos cítricos. **Summa Phytopathologica**, v.28, n.1, p.103, 2002b.

OLIVEIRA, M. N. S.; SOARES FILHO, W. S.; CUNHA, R. B. A cultura da acerola no Brasil. Cruz das Almas, BA: EMBRAPA-CNPMP, 1998. 35p.

PADOVANI, A. M.; MARÇON, A. Inibição do crescimento micelial de doenças de soja. **Summa Phytopathologica**, v.27, n.1, p.112, 2001.

PAK, H. A.; RASIM, S.; MANNING, M. A.; FULLERTON, R. A. Soft fungicides for the control of *Botrytis cinera* *in vitro* e *in vivo* on kiwifruit. **Plant Pathogens**, Proc. 51st N.Z. Plant Protection Conf. p.123-129. 1998.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de Fitopatologia - Princípios e Conceitos**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, v.1, p.417-454. 1995.

PASCHOLATI, S. F.; STANGARLIN, J. R.; HOTO, F. V.; PICCININI, E.; OSSWALDO, W. Efeito *in vitro* do ativador de defesa vegetal "Bion" no crescimento micelial e germinação de conídios de *Colletotrichum graminicola*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.23, p.266-267, 1998.

PEARCE, R. B.; RIDE, J. P. Chitin and related compounds as elicitors of the lignification response in wounded wheat leaves. **Physiological Plant Pathology**, v.20, p.119-123, 1982.

PEREIRA, J. M.; BARRETO, R. W. Ocorrência Do fungo *Corynespora cassiicola* associado a mancha foliar em *Lantana camara*. **Fitopatologia Brasileira**, v.23 (Suplemento), p.268, 1998.

PERES, N. A. R.; SOUZA, N. L.; TIMMER, L. W. Eficiência de fungicidas e de um indutor de resistência no controle da podridão floral dos citros, causada por *Colletotrichum acutatum*. **Fitopatologia Brasileira**, v.27 (Suplemento), p.150, 2002.



PICININI, E. C. Fungicidas Benzimidazoles. In: FERNANDES, J.M.; PRESTES, A. M.; PICININI, E. C. **RAPP – Revisão anual de patologia de plantas**. v.2, p.357-386. 1994.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. Piracicaba: Nobel, 1985. 466p.

PURKAYASTHA, R. P. Progress in phytoalexin research during the past 50 years. In: DANIEL, M.; PURKAYASTHA, R. P. (Ed.) **Handbook of Phytoalexin Metabolism and Action**. New York: Marcel Dekker, p.1-39, 1995.

QUEIROS, S. S.; RESENDE, M. L. V.; LEÃO, R. Z. R.; REZENDE, D. V. Efeito de fungicidas utilizados no controle da vassoura-de-bruxa do cacauero, sobre possíveis antagonistas de *Crinipellis pernicioso*. In: XXIII CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA – VI Reunião de Controle Biológico de Doenças de Plantas. **Programa de Resumos**, Campinas, p.273, 2000.

QUIRINO, V. F.; SZEREMETA, B.; GRIGOLETTI JUNIOR, A.; AUER, C. G. Efeito de fungicidas sobre a germinação de conídios e crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. XXIII CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA – VI Reunião de Controle Biológico de Doenças de Plantas. **Programa de Resumos**, Campinas, p.266, 2000.

REGENTE, M.C.; OLIVA, C.R.; FELDMAN, M.L.; CASTAGNARO, A.P.; CANAL, L. A sunflower leaf antifungal peptide active against *Sclerotinia sclerotiorum*. **Physiologia Plantarum**, v.100, p.178-182, 1997.

RESENDE, M. L.; NOJOSA, G. B. A.; AGUILAR, M. A. G.; SILVA, L. H. C. P.; NELLA, G. R.; CARVALHO, G. A.; GIOVANNI, G.R.; CASTRO, R. M. Perspectiva da indução de resistência em cacauero contra *Crinipellis pernicioso* através do benzotiadiazole (BTH). **Fitopatologia Brasileira**, v.25, n.2, p.149-156, 2000.

RIBEIRO, I. J. A.; MARTINS, F. P.; SERAPHIN, R. C. Efeito do azoxystrobin na manutenção da folhagem da videira. **Summa Phytopathologica**, v.25, n.1, p.29, 1999.

RODRIGUES, A. C. P.; PAPA, M. F. S.; CELOTO, M. I. B.; MISSIO, V. C. Fatores que afetam o crescimento micelial, esporulação e germinação de esporos de *Corynespora cassicola* da acerola. **Summa Phytopathologica**, v.30, n.1, p.122, 2004.

RODRIGUES, F. A.; JESUS JUNIOR, W. C.; ROMEIRO, R. S. Um derivado Benzotiadiazólico como ativador químico de defesa do feijoeiro à ferrugem. In: XXIII CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA – VI Reunião de Controle Biológico de Doenças de Plantas. **Programa de Resumos**, Campinas, p.247, 2000.

ROMEIRO, R. S. **Indução de resistência em plantas a patógenos**. Viçosa. UFV, 1999. 45p. (Cadernos Didáticos, 56)

RUSSOMANNO, O. M. R.; COUTINHO, L. N.; BENATO, E. A.; FIGUEIREDO, M. B. Patogenicidade de *Corynespora cassiicola* a *Euphorbia pulcherrima*. **Fitopatologia Brasileira**, v.23 (Suplemento), p.245, 1998.

SCHNEIDER, M.; SCHWEIZER, P.; MEUWLY, P.; MÉTRAUX, J. P. Systemic acquired resistance in plants. **International Review of Cytology**, v.168, p.303-340, 1996.

SILVA, R. A. Indução de resistência em cenoura através do Acibenzolar-S-methyl visando reduzir a incidência de podridão mole *Erwinia carotovora* durante a pós-colheita. **Fitopatologia Brasileira**, v.27 (Suplemento), p.69, 2002.

SILVA, L. H. C. P.; RESENDE, M. L.; SOUZA, R. M.; CAMPOS, J. R. Efeito do indutor de resistência acibenzolar-S-metil na proteção contra *Xanthomonas vesicatoria*, *Oidium lycopersici* e *Septori lycopersici* em tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v.29, n.3. p.244-248, 2003.

SILVA, L. H. C. P.; CAMPOS, J. R.; KOBAYASTI, L.; SOUZA, R. M.; RESENDE, M. L.; CASTRO, R. M. Efeito de acibenzolar-S-metil (ASM) na proteção contra *Ralstonia solanacearum* em tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.26 (Suplemento), p.295, 2001.

SILVEIRA, E. M.; RIOS, G. P. Eficiência de alguns biofertilizantes no controle da ferrugem (*Uromyces appendiculatus*) de feijoeiro comum. **Fitopatologia Brasileira**, v.25 (Suplemento), p.422, 2000.

SMITH, C.J. Accumulation of phytoalexins: defense mechanisms and stimulus response system. **The New Phytologist**, v.132, p.1-45, 1996.

SINDHAN, G. S.; HOODA, I.; PARASHAR, R. D. Evaluation of plant extracts for the control of powdery mildew of pea. **Journal of Mycology and Plant Pathology**, New Delhi, v.29, n.2, p.257-258, 1999.

SOARES, A. C.; LIMA, J. L.; VALVERDE, P. R. H.; FERREIRA, D. M.; SANTOS, C. C. F.; ROMEIRO, R. S. Controle experimental da bacteriose (*Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*) em mudas de maracujazeiro pelo uso de acibenzolar-S-methyl (BTH). **Fitopatologia Brasileira**, v.25 (Suplemento), p.332, 2000.

STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; NOZAKI, M. H. Plantas Medicinais e Controle Alternativo de Fitopatógenos. **Biotechnologia Ciência & Desenvolvimento**, ano II, n.11, p.16-21, nov/dez de 1999.

STEINHAEUER, B. Possible ways of using the neem tree to control phytopathogenic fungi. **Plant Research and Development**, Hamburg, v.50, p.83-92, 1999.

STOSSEL, P.; LEUBA, J. L. Effect of chitosan, chitin and some amino sugars on growth of various soilborne pathogenic fungi. **Phytopathology Zeist.**, v.111, p.82-90, 1984.

TOFFANO, L.; PASCHOLATI, S. F.; PISA, J. L. Avaliação *in vitro* do Ecolife⁴⁰ no crescimento de *Alternaria solani*. **Summa Phytopathologica**, v.30, n.1, p.118, 2004.

TÖFOLI, J. G.; KUROSZAWA, C.; DOMINGUES, R. J.; GARCIA JR, O. Ação de acibenzolar-s-methyl (BTH) isolado, em mistura com fungicidas e em programas de aplicação no controle da pinta preta do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v.28, n.1, p.90, 2002.

TRILOGY[®]. Specimen Label. **C & P Press**. 2003, 3p. (Folder)

TRINDADE, D. R.; POLTRONIERI, L. S.; SILVA, H. M.; ALBUQUERQUE, F. C. Doenças em plantios de acerola (*Malpighia glabra*) no Estado do Pará. **Fitopatologia Brasileira**, v.18 (Suplemento), p.280, 1993.

UTIAMADA, C. M.; HIGASHI, W. H.; SCHNEIDER, L. N.; SATO, L. N.; YORINORI, J. T. Época de aplicação de fungicida para o controle de mancha alva (*Corynespora cassiicola*) em soja. **Fitopatologia Brasileira**, v.23 (Suplemento), p.289, 1998.

VENANCIO, W. S.; ZAGONEL, J.; FURTADO, E. L.; DE SOUZA, N. L.; PERES, N. A. R. Novos fungicidas II – Famoxadone e indutores de resistência. In: FERNANDES, J.M.; PRESTES, A. M. & PICININI, E. C. **RAPP – Revisão anual de patologia de plantas**. v. 8, p.59-92. 2000.

VEIGA, J. S.; PAIVA, S. B.; BASTOS, H. B. Eficiência de azoxystrobin no controle da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) do pimentão. In: XXIII CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA – VI Reunião de Controle Biológico de Doenças de Plantas. **Programa de Resumos**, Campinas, p.259, 2000.

VIEIRA, B. S.; BARRETO, R. W. Ocorrência de *Colletotrichum gloeosporioides* em *Dracena fragrans* ker-gawl. **Fitopatologia Brasileira**, v.25 (Suplemento), p.433, 2000.

WILSON, C.L.; EL GHOUTH, A.; CHALUTZ, E.; DROBY, S.; STEVENS, C.; LU, J.Y.; KHAN, V.; ARUL, J. Potential of induced resistance to control postharvest diseases of fruits and vegetables. **Plant Disease**, v.78, p.837-844. 1994.

WIN FIT- 2000: **Compêndio agrônomo com receituário**. Viçosa: Bioagro, 2000. 1 – CD-ROM.





UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Ilha Solteira

Programa de Pós-graduação em Agronomia

Av. Brasil, 56 Centro

15385-000 Ilha Solteira - SP

www.feis.unesp.br

