

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA
AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO**

**ESPECIFICIDADE PATOGÊNICA DE *Fusarium oxysporum*, EM
BANANEIRA E OUTRAS ESPÉCIES CULTIVÁVEIS**

VALDENIA OLIVEIRA SANTOS

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
NOVEMBRO – 2016**

ESPECIFICIDADE PATOGÊNICA DE *Fusarium oxysporum*, EM BANANEIRA E OUTRAS ESPÉCIES CULTIVÁVEIS

VALDENIA OLIVEIRA SANTOS

Engenheira Agrônoma, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2014

Dissertação submetida ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Microbiologia Agrícola.

Orientador: Fernando Haddad

Co-Orientador: Saulo Alves Santos de Oliveira

CRUZ DAS ALMAS – BAHIA

NOVEMBRO – 2016

FICHA CATALOGRÁFICA

S237e	<p>Santos, Valdenia Oliveira.</p> <p>Especificidade patogênica de <i>Fusarium oxysporum</i>, em bananeira e outras espécies cultiváveis / Valdenia Oliveira Santos. _ Cruz das Almas, BA, 2016.</p> <p>100f.; il.</p> <p>Orientador: Fernando Haddad.</p> <p>Coorientador: Saulo Alves Santos de Oliveira.</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, ambientais e Biológicas.</p> <p>1.Banana – Doenças. 2.Banana – Mal-do-Panamá – Controle. 3.Fitopatologia – Análise. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.</p> <p>CDD: 634.772</p>
-------	--

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA
AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
VALDENIA OLIVEIRA SANTOS**

Dr. Fernando Haddad
Embrapa Mandioca e Fruticultura
(Orientador)

Dr. Aristóteles Pires de Matos
Embrapa Mandioca e Fruticultura

Dr. Thiago Alves Santos de Oliveira
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB

“Dissertação homologada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em
Microbiologia Agrícola em _____conferindo o grau de
Mestre em Microbiologia Agrícola em
_____.”

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado coragem e força para poder alcançar todos meus objetivos.

A minha querida família pelo amor dedicado e pelo grande incentivo.

Ao meu esposo Alex, pelo amor, carinho e apoio.

Ao meu orientador, Dr. Fernando Haddad, pela orientação, paciência e confiança.

Ao meu co-orientador, Dr. Saulo Alves pela paciência e valiosa contribuição na realização deste trabalho

Ao Dr. Carlos Augusto Dórea Bragança, pela estimada contribuição.

Ao programa de Pós Graduação em Microbiologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, pela oportunidade e condições oferecidas

A Embrapa Mandioca e Fruticultura pelo espaço utilizado por mim na realização deste trabalho.

Ao Dr. Sami Jorge Michereff, pelo fornecimento de parte do material biológico utilizado no experimento.

Ao pessoal do campo, meu querido “Bizunga” por todo o cuidado e carinho.

A equipe do laboratório de Fitopatologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Dani, Mari, Francisco Paulo, Leandro Rocha, Dr. Hermes, Camila Mascena, Joyse, Anelita, Thiago e em especial Danilo Brito, Fatinha e Lindinéia pela preciosa ajuda na execução deste trabalho.

Aos colegas do mestrado, em especial, Leandro Lopes, Josélia, Marcelly, Noely, Thaís e Patrícia.

Aos amigos que já fazem parte da minha vida, Grazielle, Jérstica, Willem e Francis, obrigada por tudo!

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa.

Muito Obrigada!

*Ao meus pais, José e Eunice, pelas orações e apoio incondicional, ao meu amor
Alex, por nunca soltar a minha mão, sempre me incentivando a ser persistente e
aos meus amigos, por acreditarem em meu potencial,*

Dedico.

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	10
INTRODUÇÃO GERAL	11
Objetivo Geral	13
Objetivos específicos	13
CAPÍTULO I	14
Revisão de literatura	14
A cultura da bananeira.....	15
O mal-do-Panamá	16
O fungo <i>Fusarium oxysporum</i>	17
Utilização da rotação de cultura para controle de <i>Fusarium oxysporum</i>	19
Especialização de <i>Fusarium oxysporum</i>	20
Hospedeiros alternativos de <i>Fusarium oxysporum</i>	21
REFERÊNCIAS	22
CAPÍTULO II	27
Especificidade patogênica de <i>Fusarium oxysporum</i>, em bananeira e outras espécies cultiváveis	27
RESUMO	28
ABSTRACT	29
INTRODUÇÃO	30
MATERIAL E MÉTODOS.....	32
Escolha dos isolados	32
Obtenção dos isolados	35
Obtenção de mudas.....	36
Produção do inóculo e inoculação	37
a) Suspensão de conídios.....	37
b) Substrato Infestado	38
Teste de patogenicidade: Postulados de Koch	38
Avaliação dos sintomas: Incidência e Severidade da doença	39
Reisolamento do patógeno	41
Obtenção de culturas monospóricas de <i>F. oxysporum</i>	41
Caracterização morfológica	42

RESULTADOS	43
1.0 Gama de hospedeiros - Incidência de sintomas externos e internos em culturas inoculadas com FOC, sob os métodos de inoculação por imersão de raízes em suspensão de esporos e areia-fubá de milho infestado com o fungo.....	43
Patogenicidade em Feijão-caupi.....	43
Patogenicidade em Tomate	45
Patogenicidade em Alface	47
Patogenicidade em mamona.....	52
Patogenicidade em Algodão.....	55
Patogenicidade em Maracujá.....	58
Classificação da incidência em classes da doença, causada por FOC em diferentes hospedeiros.....	61
Comparativo da incidência da doença no hospedeiro original e na bananeira.....	64
2.0 Incidência de sintomas internos e externos em bananeira, causada por diferentes formae speciales de F. oxysporum.....	65
Índice de doença (ID) em bananeira.....	69
Classificação da incidência em classes da doença causada por F. oxysporum de diferentes hospedeiros em bananeira.....	70
Reisolamento e confirmação do agente etiológico pela caracterização morfológica dos reisolados.....	72
DISCUSSÃO	73
CONSIDERAÇÕES FINAIS	81
REFERÊNCIAS	82
APÊNDICES	88
ANEXOS	92

RESUMO

SANTOS, V. O. **Especificidade patogênica de *Fusarium oxysporum*, em bananeira e outras espécies cultiváveis**. Cruz das Almas, 2016. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

A bananeira (*Musa* spp.), é uma das principais espécies frutíferas do Brasil e em diferentes regiões do mundo, é responsável pela geração de renda na agricultura. Entretanto, como toda espécie cultivada, ela é acometida por problemas fitossanitários como por exemplo, o mal-do-Panamá, causado pelo fungo *F. oxysporum* f. sp. *cubense*- FOC, sendo a doença mais importante da cultura, pelos prejuízos econômicos causados aos bananicultores. A estratégia mais adequada ao manejo é a utilização de variedades resistentes, porém atualmente novas variantes do patógeno têm ameaçado a viabilidade dos cultivos em médio a longo prazo. Desta forma, este trabalho objetivou, investigar a patogenicidade específica de isolados de FOC e outras forma especiais de *F. oxysporum* de outros hospedeiros como: Alface, algodão, feijão-caupi, mamona, maracujá e tomate, por meio de inoculação cruzada, visando estabelecer um conhecimento da especificidade e da gama de hospedeiros. Para isso utilizou-se dez isolados de FOC e sete isolados de diferentes hospedeiros com duas metodologias de inoculação: Imersão de raízes em suspensão de conídios - MIR; areia-fubá de milho infestado com o fungo – MAFI. No experimento com inoculação cruzada, os isolados de FOC incitaram sintomas típicos de murcha de Fusário para a grande maioria das culturas avaliadas; e os isolados de diferentes hospedeiros, causaram sintoma de murcha e de descoloração vascular em bananeira, independentemente do método de inoculação. Sendo assim, com base nos resultados obtidos é possível verificar interações inespecíficas entre FOC e outras culturas, e diferentes *formae speciales* a variedades de bananeira, indicando que a bananeira pode ser afetada por diferentes variantes de *F. oxysporum* e que outras espécies vegetais podem ser afetadas por FOC, que teoricamente é uma *forma specialis* exclusiva de Musaceas.

Palavras-chave: Gama de hospedeiros, mal-do-Panamá, *formae speciales*.

ABSTRACT

SANTOS, V. O. Pathogenic specificity of *Fusarium oxysporum* in banana and other cultivable species. Cruz das Almas, 2016. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

Banana (*Musa* spp.) is one of major fruit crop in Brazil and worldwide and responsible for generating significant income in agriculture. However, as all crop species, it is affected by pest such as the Panama disease caused by the fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* - FOC, the most important disease of culture, and responsible for economic losses caused to banana growers. The most appropriate strategy for the management of this disease is the use of resistant varieties, but currently new pathogen variants have threatened the viability of the crops in the medium to long term. Thus, this study aimed to investigate the pathogenicity of specific isolates and other FOC *formae speciales* *F. oxysporum* on other hosts such as lettuce, cotton, cowpea, castor bean, Passion fruit and tomato; by cross inoculation, in order to establish a knowledge of the specificity and host range. Ten isolates of FOC and seven isolates of different hosts with two inoculation methodologies were used: Root immersion in conidial suspension - MIR; Sand-corn meal infested with the fungus - MAFI. In the cross-inoculation experiment, FOC isolates prompted typical symptoms of Fusarium wilt for the vast majority of cultures evaluated; and isolates from different hosts caused wilt symptom and vascular discoloration in banana, regardless of inoculation method. Thus, based on the results obtained it can be seen nonspecific interactions FOC and other crops, and different *formae speciales* infecting banana varieties, plantain indicating that can be affected by different variants of *F. oxysporum* and other plant species can be affected by FOC, which theoretically is a *forma specialis* exclusively of Musaceas

Keywords: Host range, Panama disease, *formae speciales*.

INTRODUÇÃO GERAL

A cultura da bananeira (*Musa spp.*), é uma das mais importantes do mundo, ficando atrás apenas do arroz trigo e milho (FAO, 2015). Sendo uma cultura tropical cultivada extensivamente em mais de 120 países, a maioria dos quais são países em desenvolvimento (GHAG et al., 2015).

Cultivada principalmente por pequenos produtores, a bananicultura está entre as atividades agrícolas de maior expressão econômica e social no Brasil, em que produziu quase 7 milhões de toneladas em 2013, sendo a região Nordeste o destaque como a maior produtora, seguida da região Sudeste, representando, respectivamente, 40,4% e 30,6% da produção nacional (FAOSTAT, 2014). De acordo com Andrade et al. (2009), é indiscutível a importância da banana na complementação alimentar das populações de baixa renda, tendo praticamente toda a produção brasileira destinada ao mercado interno.

Como ocorre em qualquer espécie cultivada, as doenças constituem um fator limitante para aumentar sua produção e, a maioria das cultivares de bananeira utilizada pelos agricultores é suscetível às principais doenças da cultura (“Sigatoka-negra”, a “Sigatoka-amarela” e o “mal-do-Panamá”), conduzindo a severas perdas no rendimento, podendo alcançar 100%, uma vez que as alternativas de controle apresentam-se pouco eficientes e/ou de custo elevado (SILVA, et al., 2011). O Mal-do-Panamá, causado pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC) (E.F. Smith) Snyder & Hansen, é uma das doenças mais destrutivas da bananeira, sendo considerada uma das seis doenças mais economicamente importantes de todos os tempos (PLOETZ, 2005). A doença causa a morte de plantas, dificulta e até mesmo impede, a implantação de novos plantios, pois o fungo pode permanecer no solo, por meio de estruturas de sobrevivência, durante muitos anos (CORDEIRO e MATOS, 2005; PLOETZ, 2006).

Embora, Snyder e Hansen em 1984, tenham estabelecido o conceito de *formae speciales* onde estirpes de *F. oxysporum* possuem a capacidade de parasitar hospedeiros específicos baseados em ensaios, alguns fungos causam doenças em uma única espécie hospedeira, enquanto outros possuem gamas de hospedeiros extremamente amplas (ORTONEDA, et al., 2004).

Testes moleculares utilizando DNA de isolados *F. oxysporum* proveniente de bananeiras infectadas, evidenciaram que apesar da maior frequência de indivíduos geneticamente mais próximos à outros isolados de FOC, existe a ocorrência de isolados estreitamente relacionados com outras *formae* (Dados não publicados). Com base neste resultado e nos estudos populacionais realizados anteriormente (COSTA et al., 2015), pretendeu-se avaliar a especificidade patogênica e a gama de hospedeiros de isolados de *F. oxysporum*, para o manejo dessa doença tão importante em campo.

Objetivo Geral

- Investigar a patogenicidade de isolados de *F. oxysporum* de diferentes espécies, por meio de testes de inoculação cruzada, estabelecendo assim um conhecimento da especificidade e da gama de hospedeiros.

Objetivos específicos

- Avaliar a patogenicidade de diferentes *forma especiales* de *F. oxysporum* em bananeira;
- Estabelecer gama de hospedeiros de *F. oxysporum*, por meio de inoculação cruzada;
- Avaliar a patogenicidade de FOC a outras culturas;

CAPÍTULO I

Revisão de literatura

A cultura da bananeira

A bananeira (*Musa* spp.) pertence à família botânica Musaceae e é originária da região sudeste da Ásia, que hoje compreendem Filipinas, Malásia e Indonésia. (DE LANGHE et al., 2009). É uma planta tipicamente tropical, exigindo altas temperaturas, precipitações bem distribuídas e elevada umidade para o seu bom desenvolvimento e produção. A banana é a fruta mais consumida no mundo e no Brasil, sendo um alimento energético, rico em carboidratos, sais minerais, como sódio, magnésio, fósforo e, principalmente, o potássio (BORGES E SOUZA, 2004).

A planta é caracterizada por apresentar caule suculento e subterrâneo (rizoma) e o pseudocaule é formado pelas bases superpostas das folhas, onde termina em uma copa de folhas largas e compridas com uma nervura central desenvolvida (BORGES E SOUZA, 2004). Foi provavelmente a primeira planta frutífera a ser cultivada pelo homem, está presente em mais de 107 países, ocupando cerca de quatro milhões de hectares (SILVA et al., 2013).

Os cachos geram frutos abundantes, em forma de bagas alongadas, cujo formato lembra dedos (o nome banana, vem justamente da palavra árabe “*banan*” que significa dedo) (MANICA, 1997).

De acordo com dados da FAO (2014), o Brasil é quinto maior produtor de bananas no mundo, atrás apenas da Índia, China, Filipinas e Equador.

Dentre as frutíferas tropicais exploradas em todo o mundo, a banana se destaca apresentando o segundo maior volume de produção e o primeiro em consumo. No Brasil, sua produção tornou-se uma atividade realizada principalmente por médio e pequeno produtor e a maioria dessa produção é destinada à comercialização interna (ANDRADE, et al., 2009). No Brasil predomina as cultivares AAB, como “Prata” e “Pacovan”, que juntas correspondem a aproximadamente 60% da área plantada, seguido pelas cultivares do sub-grupo ‘Cavendish’ (AAA), como ‘Nanica’ e ‘Nanicão’ (SILVA et al, 2001).

Como ocorre em qualquer espécie cultivada, a bananeira é afetada por diversos problemas fitossanitários, destacando-se aqueles causados por fungos como, a “Sigatoka-negra” causada por *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, a “Sigatoka-amarela” causada por *mycosphaerella musicola* Leach e o “Mal-do-Panamá” causado por *F.oxysporum* f. sp. *cubense* FOC Snyder & Hnsen (CORDEIRO; MATOS; KIMATI, 2005).

O mal-do-Panamá, é conhecida como a principal doença da bananeira no mundo, sendo endêmico de todas as regiões produtoras de banana.

O mal-do-Panamá

A doença foi detectada pela primeira vez na Austrália em 1874, sendo em seguida disseminado para países da América Central e do Sul (SILVA et al, 2011). A denominação mal-do-Panamá é devida a destruição que a doença causou em bananais da cultivar Gros Michel no Panamá, onde cerca de 40.000 hectares foram destruídas pela doença. FOC afeta tanto espécies do gênero *Musa* como do gênero *Heliconia*, e suas estirpes foram classificadas em quatro raças fisiológicas com base na patogenicidade de cultivares em campo (raça 1 cv 'Gros Michel'; raça 2, cv 'Bluggoe' raça 3, *Heliconia* spp.; e raça 4, plantas do sub-grupo Cavendish e todas as cultivares suscetíveis às raças 1 e 2) (CORDEIRO et al., 2005; BENTLEY et al., 1998). A raça 4 é subdividida em raça 4 tropical (R4T) e raça 4 subtropical (R4S), a raça 4 subtropical se refere a populações de FOC que são capazes de afetar Cavendish em áreas expostas a baixas temperaturas, enquanto que a R4T pode afetar Cavendish tanto em condições tropicais quanto subtropicais (BUDDENHAGEN, 2009).

No Brasil o mal-do-Panamá foi inicialmente observado em 1930, em Piracicaba (São Paulo) onde dizimou cerca de um milhão de plantas de banana da cultivar "Maçã" (CORDEIRO et al., 2005). Esta doença está disseminada em todas as regiões do Brasil e desde que o fungo entrou no país, a banana 'Maçã', altamente susceptível, tem sido também substituída pelas variedades resistentes (SILVA et al., 2012)

Os sintomas exibidos pelas plantas infectadas podem ser observados interna ou externamente. Externamente nota-se um amarelecimento progressivo, das folhas mais velhas para as folhas mais novas, começando pelos bordos do limbo em direção à nervura principal. Posteriormente ocorre murcha, seguida da quebra do pecíolo junto ao pseudocaule, o que dá à planta a semelhança de um guarda-chuva fechado (CORDEIRO et al., 2005).

A característica dos sintomas internos são a descoloração vascular e a necrose de vasos do xilema (DITA et al., 2010). Estes podem ser notados ao se

realizarem cortes transversais ou longitudinais no pseudocaule ou rizoma. Dependendo do nível de resistência da cultivar, plantas doentes não chegam a produzir cachos ou, quando produzem, têm frutos com valor comercial comprometido, apesar de sintomas da doença não terem sido observados dentro ou fora dos frutos (LI et al., 2013).

O fungo *Fusarium oxysporum*

O gênero *Fusarium* é extremamente diversificado e extensivamente distribuídos em todo o mundo, sendo encontrado em regiões temperadas à tropicais (LESLIE E SUMMERELL, 2006). O gênero é caracterizado morfológicamente, apresentando inicialmente em meio de cultura BDA (Batata Dextrose Ágar), um rápido crescimento, colônias com coloração pálida ou colorida (violeta à púrpura escuro ou do creme ao laranja) e com micélio aéreo e difuso, podendo ser flocoso, escasso ou abundante (FIGUEIREDO E SILVA, 2014; PLOETZ, 2006; LESLIE E SUMMERELL, 2006).

Fusarium oxysporum pertence ao filo Ascomycota, classe Pezizomycotina, ordem Hypocreales, família Nectriaceae e gênero *Fusarium* (MYCOBANK, 2014).

Este fungo produz três tipos de esporos assexuais: macroconídios, microconídios e clamidósporos (FOURIE et al., 2011): microconídio, produzidos abundantemente em fiálides curtas, não possuem septos, podendo ter formato oval, elíptico e reniforme (forma de rim); macroconídio, são de comprimento médio, curvados, geralmente com três septos e produzidos em conidióforos ou na superfície de esporodóquios; clamidósporos, constituem a estrutura de resistência do patógeno, são formados na parte terminal ou intercalar no micélio pela maioria dos isolados, podendo apresentar superfície lisa ou rugosa, geralmente formados isolados ou em pares mas podem apresentar-se também em cadeia (LESLIE E SUMMERELL, 2006).

O gênero *Fusarium* é constituído por espécies de fungos habitantes de solo, que causam graves doenças de plantas em todo o mundo (AGRIOS, 2005). O complexo de espécies *F. oxysporum* (FOOSC) compreende um grupo de fungos que são intensivamente estudados devido à sua capacidade de causar doença em plantas e seres humanos. As estirpes patogênicas de plantas causam doenças

como murchas vasculares devastadoras ao longo de uma ampla gama de hospedeiros e estão entre os mais importantes economicamente fitopatógenos habitantes do solo do mundo, devido ao nível de perda resultante quando infecta uma planta (LESLIE E SUMMERELL, 2006).

O processo de infecção, como outros patógenos vasculares, ocorre após a fixação do fungo à superfície radicular, penetração e posterior colonização da raiz da planta e proliferação dentro dos vasos do xilema. O patógeno permanece confinado ao xilema e, a partir daí, distribui-se por toda a planta, por meio do crescimento de hifas ou pela produção de conídios. Com a evolução da doença, inicia-se a obstrução e o escurecimento dos vasos condutores (BEDENDO, 1995; LI et al., 2011), impedindo assim, o movimento da água para a parte superior da planta hospedeira que por sua vez provoca o amarelecimento, murcha e, eventualmente, a morte do hospedeiro (BERROCAL-LOBO E MOLINA, 2008; LEONG, et al., 2009).

F.oxysporum pode persistir em áreas infestadas por um período de tempo prolongado na superfície das plantas como macroconídios ou mesmo sobreviver no solo na forma de clamidóporos latentes na ausência de uma planta hospedeira adequada (BERROCAL-LOBO E MOLINA, 2008). Por isso, é importante ressaltar a adoção de medidas que impeçam a entrada do fungo em áreas onde ainda não foi constatada a doença (KUROZAWA E PAVAN, 2005). Esta espécie é composta por várias estirpes individuais classificadas em várias *formae speciales* (CORREL, 1991). As *formae speciales* comuns de *F. oxysporum*, provocam murcha vascular em uma grande variedades de culturas (RONCERO et al, 2003).

Atualmente, não existem tratamentos curativos eficazes para controlar *F. oxysporum* e plantas infectadas devem ser removidos rapidamente para evitar a propagação da doença (LIEVENS et al., 2008). Acredita-se que um dos métodos efetivos de combater a doença seja o uso de genótipos resistentes (MICHIELSE E REP, 2009).

Utilização da rotação de cultura para controle de *Fusarium oxysporum*

A rotação de culturas é uma prática recomendada para reduzir o potencial de inóculo de patógenos para a cultura sucessora ou interromper o ciclo de determinadas pragas. Essa prática constitui-se num dos principais fatores determinantes da sustentabilidade do sistema de plantio direto e da agricultura orgânica (ANDREOLA E FERNANDES, 2007). Os principais métodos utilizados para controlar doenças fúngicas são a rotação de culturas, a resistência do hospedeiro e, especialmente, o uso de fungicidas químicos (ABAWI E WIDMER, 2000). A rotação de culturas, com o emprego de espécies de plantas de famílias botânicas diferentes contribui para a eliminação ou redução do inóculo de patógenos na área cultivada (REIS et al, 2011). Porém, a rotação de cultura no caso de *Fusarium oxysporum* pode não ser muito próspero devido a ampla gama de hospedeiros deste fungo.

As principais características de fitopatógenos não controláveis na rotação de cultura são: i) apresentar habilidade saprofítica; ii) apresentar estruturas de sobrevivência que possam permanecer viáveis por um longo período de tempo, como é o caso de clamidósporos produzidos por *Fusarium*; e iii) possuir ampla gama de hospedeiros (REIS et al, 2011). Outra prática corriqueira entre os agricultores é a utilização de consórcio entre culturas, pois, a necessidade de cultivar duas ou mais culturas na mesma área leva o pequeno produtor a buscar melhores combinações de cultivo, a fim de diversificar a sua produção e obter outras fontes de alimento e renda. Além disso, possibilita uma exploração mais intensiva da propriedade agregando valor à cultura da bananeira que é a principal (LIMA et al., 2005). Essas espécies vegetais escolhidas para o consórcio, não devem ser hospedeiras comuns dos patógenos das culturas cultivadas na mesma área da lavoura, pois *Fusarium oxysporum* pode incidir em uma série de plantas cultivadas, bem como plantas daninhas e silvestres, podendo servir de hospedeiro alternativo para o fungo na ausência do hospedeiro original (REIS E FORCELINI, 1995).

Especialização de *Fusarium oxysporum*

A murcha de *Fusarium*, causada por *formae speciales* do fungo *F. oxysporum* que se desenvolve no solo, é um problema importante em muitas culturas (GHINI et al., 2000).

A capacidade de *Fusarium* em colonizar determinadas espécies hospedeiras específicas, permitiu que Snyder e Hansen (1940) instituíssem uma nova classificação chamado de *formae speciales* (KURAMAE E SOUZA, 2002).

O conceito *formae speciales* foi proposto por SNYDER E HANSEN (1940), para caracterizar a imensa diversidade de isolados de *F. oxysporum* e de acordo com o este sistema, as estirpes patogênicas individuais são colocados juntos em grupos chamados *formae speciales*, se eles possuem a habilidade de parasitar hospedeiros específicos (GANOPOULOS et al., 2012) tal como, um isolado particular produz tipicamente doença apenas em uma gama limitada de espécies hospedeiras. Além disso, algumas *formae speciales* incluem estirpes que só causam doenças em certas variedades de uma espécie de planta e são subdivididas em raças (SUGA et al., 2013).

Isolados patogênicos de *F. oxysporum* estão classificados dentro de mais de 150 *formae speciales*, cada uma delas constituída de um ou mais grupos de compatibilidade vegetativa (VCGs) e raças (BAAYEN et al., 2000; GANOPOULOS et al., 2012). Entre eles, *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC), agente causal da murcha de fusário na bananeira, uma das doenças mais destrutivas da cultura (FOURIE et al., 2009), sendo um fungo morfologicamente similar a outros membros da espécie *F. oxysporum*, mas separado por sua especialização fisiológica em relação a bananeira (CORRELL, 1991). Com base na compatibilidade vegetativa, isolados de FOC foram separados em 24 grupos de compatibilidade vegetativa (VCGs). Na sua forma mais simples, compatibilidade vegetativa significa que duas hifas podem anastomosar e se fundem para formar um heterocário estável. Sendo a parassexualidade, heterocariose e recombinação sexual, fatores que implicam na evolução deste patógeno (FOURIE et al., 2009).

Na realidade, segundo Armstrong & Armstrong, (1981) a especificidade de hospedeiro ocorre, mas não para todas as *formae speciales*. Para algumas, a classe de hospedeiro é ampla. Além dos clamidósporos, FOC pode sobreviver de forma saprofítica nos restos de tecidos e endofiticamente em plantas hospedeiras,

sendo os hospedeiros principais pertencentes aos gêneros *Musa* e *Heliconia* e hospedeiros secundários (HENNESSY et al., 2005).

Hospedeiros alternativos de *Fusarium oxysporum*

Fusarium oxysporum, a espécie mais amplamente conhecida do gênero *Fusarium*, é capaz de causar doença em inúmeras culturas vegetais, possuem cepas não patogênicas e também aquelas que podem causar sintomas em seres humanos (ORTONEDA et al., 2004). Excessão das gramíneas e da maioria das culturas arvenses, poucas das espécies cultivadas não são hospedeiros de uma forma patogênica de *F. oxysporum* (DI PIETRO et al., 2003).

O fato desse fungo, poder atacar inúmeras espécies, leva a questionamentos quanto sua especificidade. Gordon et al. (1989), realizou um estudo para determinar a frequência de infecção da raça 2 de *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, outras espécie de *Fusarium* e cepas não patogênicas em raízes de seis culturas utilizadas em rotação com cultivares de melão susceptíveis. O resultado mostrou que todas as culturas tiveram suas raízes colonizadas por *F. oxysporum* f sp. *melonis* e as cepas não patogênicas apresentaram a maior frequência de colonização.

A maior preocupação porém, é que fungos fitopatogênicos habitantes do solo compõem um problema de difícil controle em uma área cultivada, pois produzem estruturas de resistência que podem sobreviver no solo por um extenso período (BUENO, et al., 2006). Portanto, uma vez o patógeno estabelecido na área, difícil sua erradicação.

Em um outro estudo realizado para determinar se plantas daninhas que ocorrem naturalmente juntamente com outras culturas cultivadas na mesma área com tomate, podiam atuar como hospedeiras assintomáticas de *F. oxysporum* f. sp, *lycopersici*, revelou que tanto as ervas daninhas como a cultura utilizada, apresentaram vários graus de colonização (FASSIHLANI, 2000), mostrando que o fungo pode utilizar outras plantas não identificadas como potenciais hospedeiras, devido ao conceito de especificidade patogênica. Demonstrando a importância do conhecimento da gama de hospedeiros e de um bom manejo da doença.

REFERÊNCIAS

- ABAWI, G. S.; WIDMER, T. L. Impact of soil health management practices on soilborne pathogens, nematodes and root diseases of vegetable crops. **Applied Soil Ecology**, v.15, p.37–47, 2000.
- AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 5 th Ed. Amsterdam. Elsevier Academic Press. 2005.
- ANDRADE, F.W.R.; AMORIM, E.P.R.; ELOY, A.P.; RUFINO, M.J. Ocorrência de doenças em bananeira no Estado de Alagoas. **Summa Phytopathologica**, v. 35, n. 4, p. 305-309, 2009.
- ANDREOLA, F.; FERNANDES, S. A. P. A microbiota do solo na agricultura orgânica e no manejo das culturas. In: SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Instituto Agrônômico de Campinas – SP. p.312, 2007.
- ARMSTRONG GM, ARMSTRONG JK. *Formae speciales* and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. In: Nelson PE, Toussoun TA, Cook RJ, eds. **Fusarium: disease, biology, and taxonomy**. University Park, PA, USA: State University Press, p. 391–399, 1981.
- BAAYEN, R.P.; O'DONNELL, K.; BONANTS, P.J.M.; CIGELNIK, E.; KROON, L.P.N.M.; ROEBROECK, E.J.A.; WAALWIJK, C. Gene genealogies and AFLP analyses in the *Fusarium oxysporum* complex identify monophyletic and nonmonophyletic formae speciales causing wilt and rot disease. **Phytopathology**, v. 90, p.891-900, 2000.
- BEDENDO, I; Doenças vasculares. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos**. Piracicaba: Agronômica Ceres, p. 838-847, 1995.
- BENTLEY,S.; PEGG, K. G.; MOORE, N. Y.; DAVIS, R. D.; Buddenhagen, I. W. Genetic Variation Among Vegetative Compatibility Groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Analyzed by DNA Fingerprinting. **Phytopathology**. v. 88, p. 1283-1293, 1998.
- BERROCAL-LOBO, M., MOLINA, A. Arabidopsis defense response against *Fusarium oxysporum*. **Trends in Plant Science**. v. 13, p.145-150, 2008.
- BORGES, A. L; SOUZA, L. S. Calagem e adubação. In: **O Cultivo da Bananeira**. (Eds. A. L. Borges & L. S. Souza). Embrapa Mandioca e Fruticultura, p. 279, 2004
- BUDDENHAGEN, I. Understanding Strain Diversity in *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* and History of Introduction of 'Tropical Race 4' to Better Manage Banana Production. **Acta Horticulturae**. v. 828, p.193-204, 2009.

BUENO, C.J.; AMBRÓSIO M.M.Q.; SOUZA, N.L. Preservação de Fungos Habitantes de Solo. **Summa Phytopathologica**. v. 32, p. 42-50, 2006.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; KIMATI, H. Doenças da bananeira (*Musa* spp). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo, SP: Agronômica Ceres, p. 686,1997.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; KIMATI, H. Doenças da bananeira (*Musa* spp). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo, SP: Agronômica Ceres, p. 99-117, 2005.

CORRELL, J.C. The relationship between *formae speciales*, races, and vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. **Phytopathology**, Sant Paul, v. 81, n. 9, p.1061-1064, 1991.

COSTA, S. N.; BRAGANÇAL, C. A. D.; RIBEIRO, L. R.; AMORIM, E. P.; OLIVEIRA, S. A. S.; DITA, M. A.; LARANJEIRA, F.F.; HADDAD, F. Genetic structure of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in different regions from Brazil. **Plant Pathology**, v.64, p.137–146, 2015.

DE LANGHE, E.; VRYDAGHS, L.; MARET, P.; PERRIER, X.; DENHAM, T. Why Bananas Matter: An introduction to the history of banana domestication. **Ethnobotany Research & Applications**, v.7, p.165-177, 2009.

DI PIETRO, A.; MADRID, M.P.; CARACUEL, Z.; DELGADO-JARANA, J.; RONCERO, M.I.G. *Fusarium oxysporum*: exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus. **Molecular Plant Pathology**, v. 4, n.5, p. 315–325, 2003

DITA, M.A.; WAALWIJK, C.; BUDDENHAGEN, I. W.; SOUZA JR, M. T.; KEMA, G.H.J. A molecular diagnostic for tropical race 4 of the banana fusarium wilt pathogen. **Plant pathology**, v. 59, p. 348-357, 2010.

FAO. **FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO)**. Disponível em: www.fao.org. 2015.

FAOSTAT. **FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO)**. 2014. Disponível em: <http://faostat.fao.org/beta/es/#data/QC/visualize>. Acesso em: 10 setembro de 2014.

FASSIHIANI, A. Symptomless Carriers of the Causal Agent of Tomato Wilt Pathogen. **Jornal of Agricultural Science and Technology**. v. 2, p. 27-32, 2000.

FIGUEIREDO, A.; SILVA, A.C.; Atividade "*in vitro*" de extratos de *Pycnoporus sanguineus* e *Lentinus crinitus* sobre o fitopatógeno *Fusarium* sp. **Acta Amazônica**. Manaus, v. 44 no.1, p. 1-8, 2014.

FOURIE, G.; STEENKAMP, E.T.; GORDON, T.R.; VILJOEN, A. Evolutionary relationships among the *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* vegetative

compatibility groups. **Applied and Environmental Microbiology**. South Africa, v.75, n.14, p. 4769- 4781, 2009.

FOURIE, G.; STEENKAMP, E.T.; PLOETZ, R.C.; GORDON, T.R.; VILJOEN, A. Current status of the taxonomic position of *Fusarium oxysporum* formae specialis *cubense* within the *Fusarium oxysporum* complex. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 11, p.533-542, 2011.

GANOPOULOS, I.; MEDESIS, P.; ZAMBOUNIS, A. TSAFTARIS, A. High-resolution melting analysis allowed fast and accurate closed-tube genotyping of *Fusarium oxysporum* formae specialis complex. **FEMS Microbiology Letters**, v. 334, p.16–21, 2012.

GHAG, S. B.; SHEKHAWAT, U. K. S.; GANAPATHI, T. R. *Fusarium* wilt of banana: biology, epidemiology and management. **International Journal of Pest Management**, v. 27, p. 1-15, 2015.

GHINI, R.; MEZZALAMA, M.; AMBROSOLI, R.; BARBERIS, E.; GARIBALDI, A.; PIEDADE, S. M.S. *Fusarium oxysporum* strains as biocontrol agents against *Fusarium* wilt: effects on soil microbial and activity. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, p. 93-101, 2000.

GORDON, T.R.; OKAMOTO, D.; JACOBSON, D.J. Colonization of Muskmelon and nonsusceptible crops by *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* and other species of *Fusarium*. **Ecology and Epidemiology**. v.79, n. 10, p. 1095-1100, 1989.

HENNESSY, C.; WALDUCK, G.; DALY, A.; PADOVAN, A. Weed hosts of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 in northern Australia. **Australasian Plant Pathology**, v.34 p.115–117, 2005.

KURAMAE, E. E.; DE SOUZA, N. L. Variabilidade genética entre *formae specialis* de *Fusarium oxysporum* e raças 1 e 2 de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* através de RAPD e sequências de regiões ITS e rDNA. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1481-1485, 2002.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M.A.P. Doenças do tomateiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, A.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 4. Ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, p. 607-626, 2005.

LEONG, S.K.; LATIFFAH, Z.; BAHARUDDIN, S. MOLECULA. Characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* of Banana. **American Journal of Applied Sciences**. v.7, p.1301-1307, 2009.

LESLIE, J.F.; SUMMERELL, B.A. **The *Fusarium* laboratory manual**. Ames, Iowa, p. 388, 2006

LI, C.; CHEN, S. ZUO, C.; SUN, O.; YE, Q.; YI, G.; HUANG, B. The use of GFP-transformed isolates to study infection of banana with *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4. **Plant Pathology**. v. 131, p. 327–340, 2011.

LI, C.; ZUO, C.; DENG, G.; KUANG, R.; YANG, Q.; HU, C.; SHENG, O.; ZHANG, S.; MA, L.; G WEI, Y.; YANG, J.; LIU7, S.; BISWAS, M. K.; VILJOEN, A.; YI, G. Contamination of Bananas with Beauvericin and Fusaric Acid Produced by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **PLOS ONE**, v. 8, p. 1-11, 2013.

LIEVENS, B.; REP, M.; THOMMA, B.P.H.J. Recent developments in the molecular discrimination of *forma eseciales* of *Fusarium oxysporum*. **Pest Management Science**, v.64, p.781–788, 2008.

LIMA, M.B.; ALVES, E. J.; BORGES, A.L.; NASCIMENTO, F.H.Z. Efeitos das culturas de milho (*zea mays*), feijão (*phaseolus vulgaris*) e caupi (*vigna unguiculata*) na agregação de valor ao cultivo da bananeira 'terra', em teolândia, litoral sul da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 1, p. 55-59, 2005.

MANICA, I. **Fruticultura Tropical 4: Banana**. Ed. Cinco continentes, 485 p. 1997.

MICHIELSI, C. B.; REP, M. Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum* **Molecular Plant Pathology**, v. 10, p. 311–324, 2009.

MYCOBANK. **Fungal databases nomenclature and species banks**. Disponível em: www.mycobank.org. 2014.

ORTHONEDA, M.; GUARRO, J.; MADRID, P. M.; RONCERO, M.I.G.; MAYAYO, E.; DI PIETRO, A. *Fusarium oxysporum* as a multihost model for the genetic dissection of fungal virulence in plants and mammals. **Infection and Immunity**, v. 72, n. 3, p. 1760-1766, 2004.

PLOETZ, R. C. Panama disease: An old nemesis rears its ugly head. Part 2. The Cavendish era and beyond. **APS net**, Feature Story. 2005.

PLOETZ, R. C. *Fusarium* wilt of banana is caused by several pathogens referred to as *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **Phytopathology**. Saint Paul, v. 96, n. 6. p. 653-656, 2006.

REIS, E.M.; CASA, R.T.; BIANCHIN, V. Controle de doenças de plantas pela rotação de culturas. **Summa Phytopathologica**, v.37, n.3, p. 85-91, 2011.

REIS, E.M.; FORCELINI, C.A. Controle cultural. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia: Princípios e conceitos**. v.1 3ed. São Paulo: Agronômica Ceres, p.710-716, 1995.

RONCERO, M. I.G.; HERA, C.; RUBIO, M.R.; MACEIRA, F.I.G.; MADRID, M.P.; CARACUEL, Z.; CALERO, F.; JARANA, J.D.; RODRIGUEZ, R.R.; ROCHA, A.L.M.; VELASCO, C.; ROA, J.; URDIROZ, M.M.; CORDOBA, D.; DI PIETRO, A. *Fusarium* as a model for studying virulence in soilborne plant pathogens. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v 62, p. 87-98, 2003.

SAIKIA, R.; KADDOO, N. Molecular Detection and Identification of *Fusarium oxysporum*. **Molecular Identification of Fungi**, p.1-28, 2010.

SILVA, S. O. E; SOUZA JUNIOR, M. T.; ALVES, E. J.; SILVEIRA, J. R. S.; LIMA, M. B. Banana breeding program at Embrapa. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 1, n. 4, p. 399-436, 2001.

SILVA, S. O.E.; MATOS, A. P.; CORDEIRO, Z J. M.; LIMA, M. J. C; AMORIM, E. P. Avaliação de tetraploides de bananeira cultivados em área infestada pelo agente do mal-do-Panamá. **Revista Brasileira de Fruticultura** v. 33, n. 1, p.137-143, 2011.

SILVA, S. O.E.; MATOS, A. P.; CORDEIRO, Z J. M.; AMORIM, E. P.; LIMA, M. J. C. Avaliação de diploides de bananeira em área artificialmente infestada pelo mal-do-Panamá. **Magistra**, v. 24, n. 3, p. 210-216, 2012.

SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J.A.; FERREIRA, C. F.; RODRIGUEZ, M. A.D. Melhoramento genético da bananeira: Estratégias e tecnologias disponíveis. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v.35, n3, p. 919-931, 2013.

SNYDER W. C.; HANSEN H. N. **The Species Concept in Fusarium**. American Journal of Botany, Vol. 27, No. 2, p. 64-67, 1940.

SUGA, H.; HIRAYAMA, Y.; MORISHIMA, M.; SUZUKI, T.; KAGEYAMA, K.; HYAKUMACHI, M. 2013. Development of PCR primers to identify *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*. **Plant Disease**. V. 97, p.619-625, 2013.

CAPÍTULO II

Especificidade patogênica de *Fusarium oxysporum*, em bananeira e outras espécies cultiváveis

Artigo a ser submetido a Revista Tropical Plant Pathology

1 RESUMO

2 SANTOS, V. O. **Especificidade patogênica de *Fusarium oxysporum*, em**
3 **bananeira e outras espécies cultiváveis.** Cruz das Almas, 2016. Dissertação
4 (Mestrado em Microbiologia Agrícola). Universidade Federal do Recôncavo da
5 Bahia.

6 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC), é o agente causal da doença conhecida
7 como mal-do-Panamá, sendo muito importante para as regiões produtoras de
8 banana (*Musa* spp.) em todo o mundo por seu potencial destrutivo à cultura. Em
9 estudos anteriores, verificou-se uma alta diversidade genética em FOC, além da
10 presença de isolados geneticamente relacionados a outras *formae speciales* que
11 não a f. sp. 'cubense'. Dessa forma, este trabalho objetivou, investigar a
12 patogenicidade específica de isolados de FOC e *F. oxysporum* de outros
13 hospedeiros como: Alface (*Lactuca sativa*); algodão (*Gossypium hirsutum*); feijão-
14 caupi (*Vigna unguiculata*), mamona (*Ricinus communis*), maracujá (*Passiflora*
15 *edulis* Sims f. *flavicarpa* Deneger) e tomate (*Solanum lycopersicum*) por inoculação
16 cruzada. Utilizou-se dez isolados de FOC e sete isolados de *F. oxysporum* de
17 diferentes hospedeiros com dois métodos de inoculação: Imersão de raízes em
18 suspensão de conídios e areia-fubá de milho infestado com o fungo. Os isolados
19 estudados mostraram sintomas típicos da doença em todas as culturas em pelo
20 menos, um método de inoculação. Com base nos resultados obtidos é possível
21 verificar que a bananeira pode ser afetada por diferentes variantes de *F. oxysporum*
22 e que outras espécies vegetais podem ser afetadas por FOC, que teoricamente é
23 uma *forma specialis* exclusiva de Musaceas.

24 **Palavras-chave:** Gama de hospedeiros, mal-do-Panamá, *formae speciales*

25 **ABSTRACT**

26 SANTOS, V. O. **Pathogenic specificity of *Fusarium oxysporum* in banana and**
27 **other cultivable species.** Cruz das Almas, 2016. Dissertation (Master of
28 Agricultural Microbiology). Federal University of Bahia Reconcavo.

29 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC), is the causal agent of the Panama
30 disease, being very important to the banana (*Musa* spp.) producing regions
31 throughout the world for its destructive potential on the culture. A high genetic
32 diversity of FOC isolates were evidenced on previous studies, and the presence of
33 isolates genetically related to other *formae speciales* than 'FOC', was also notices.
34 Thus, this study aimed to investigate the specificit of pathogenicity of FOC and
35 others *F. oxysporum* from other hosts such as lettuce (*Lactuca sativa*); cotton
36 (*Gossypium hirsutum*); cowpea (*Vigna unguiculata*), castor bean (*Ricinus*
37 *communis*), passion fruit (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deneger) colonization
38 and tomato (*Solanum lycopersicum*) by cross inoculation. Ten isolates of FOC and
39 seven isolates of *F. oxysporum* from different hosts were inoculated using two
40 methods: Immersion of roots in conidial suspension and sand-corn meal infested
41 with the fungus. The isolates studied showed typical symptoms of the disease in all
42 cultures in at least one method of inoculation. Based on the results is possible to
43 noticed that the banana can be affected by different variants of *F. oxysporum* and
44 other plant species may be affected by FOC, which theoretically is a *forma specialis*
45 exclusively of Musaceas.

46 **KEYWORDS:** *formae speciales*, host range, Panama disease.

47 INTRODUÇÃO

48 A banana (*Musa* spp.) está entre as culturas alimentares mais importantes
49 mundialmente, servindo como alimento básico e fonte de renda em muitos países
50 em desenvolvimento (DITA et al., 2010; PLOETZ, 2015). Considerando o aspecto
51 nutricional, é a principal cultura frutícola do mundo e, em termos de valor
52 econômico, ocupa o quinto lugar no comércio mundial (AURORE et al., 2009). No
53 panorama nacional, segundo FAO (2015), o Brasil mesmo ocupando a quinta
54 posição mundial de produção, a cultura é cultivada principalmente por pequenos
55 produtores e sua grande produção, abastece quase que exclusivamente a
56 demanda interna. A importância socioeconômica da fruta pode ser destacada pelo
57 fato dela constituir uma fonte de alimento em países das faixas tropicais do globo
58 com populações de baixa renda, por sua facilidade de cultivo, simplicidade no
59 preparo, preço acessível e boas características alimentares (MARTINS &
60 FURLANETO, 2008).

61 Por ser uma cultura tão importante para a economia mundial, o cultivo da
62 banana é ameaçado por doenças e pragas que constituem importante fator
63 limitante para o aumento da sua produção podendo citar o mal-do-Panamá, que
64 tem como agente causal, o fungo habitante de solos, *F. oxysporum* f. sp. *cubense*
65 (FOC), que está entre os mais destrutivos patógenos da bananeira (FRASER-
66 SMITH et al., 2014; GHAG et al., 2015). FOC acarreta a severas perdas no
67 rendimento, que podem alcançar 100% e inviabilizar plantios uma vez que produz
68 clamidósporos, que podem sobreviver no solo durante muito tempo e as
69 alternativas de controle apresentam-se pouco eficientes e/ou de custo elevado
70 (PEREIRA et al, 2005; SILVA et al, 2011).

71 Os principais métodos de controle baseiam-se em medidas preventivas
72 como, evitar áreas com históricos da doença ou com cultivos anteriores de
73 bananeira, fumigação do solo, rotação de culturas e principalmente o uso de
74 variedades resistentes (FRAVEL, et al, 2003). A rotação de cultura visa diminuir a
75 população de patógenos específicos de alguns hospedeiros mas não é uma pratica
76 muito eficiente em patógenos de solo que produz estruturas de resistência como *F.*
77 *oxysporum* (GHAG et al., 2015). Como esse fungo pode causar doença em uma
78 série de culturas economicamente importantes, o manejo adequado da doença
79 causada por ele é muito importante para o estabelecimento, desenvolvimento e
80 sucesso da lavoura e para evitar a disseminação do patógeno.

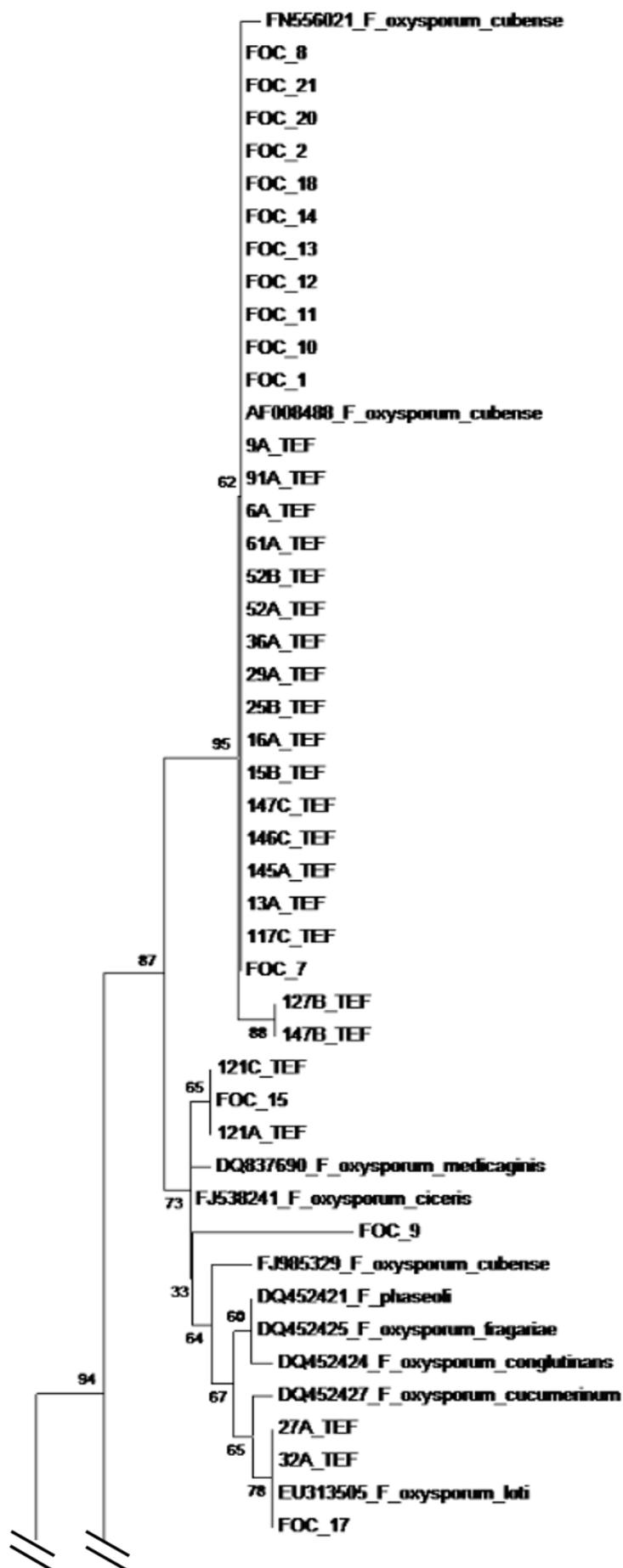
81 Perante da importância da cultura da bananeira e da seriedade no manejo
82 da doença causada por *F. oxysporum*, foram desenvolvidos estudos prévios
83 moleculares, onde estes testes mostraram similaridade genética de FOC com
84 outras *formae speciales* de *F. oxysporum*. Porque apesar da importância do
85 patógeno e da doença que ele causa, não há muitos estudos da especificidade, ou
86 seja, não se sabe se os isolados de FOC são capazes de causar murcha em outras
87 espécies de plantas e nem se diferentes *formae speciales* de *F.oxysporum*
88 realmente não são danosos à cultura da bananeira.

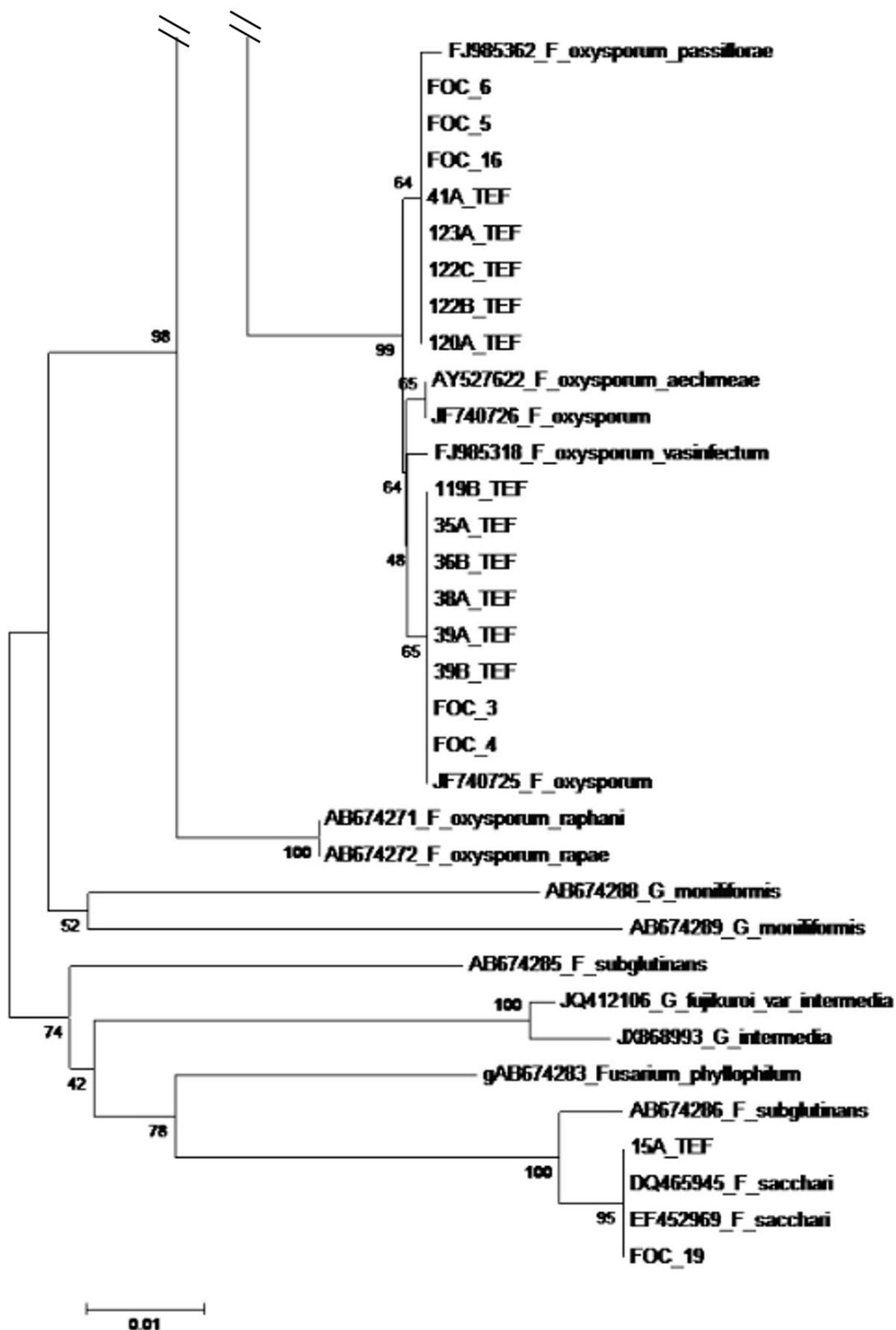
89 Diante do acima mencionado, o presente trabalho teve como objetivo,
90 investigar a especificidade patogênica de isolados de *F. oxysporum* de diversas
91 espécies cultivadas potencialmente nocivos a cultura da bananeira, e isolados de
92 bananeira avaliados através de testes de inoculação cruzada, estabelecendo assim
93 um conhecimento da gama de hospedeiros, sendo essenciais para o manejo de
94 doenças em campo, uma vez que, estudos como este revelam que hospedeiros
95 alternativos podem atuar como fonte de inóculo para a cultura da bananeira.

96 MATERIAL E MÉTODOS

97 Escolha dos isolados

98 Os isolados utilizados foram escolhidos com base em resultados de estudos
99 prévios de diversidade genética e sequenciamento do gene fator alfa de alongação
100 (COSTA et al., 2015). Foram incluídos nos testes os isolados que apresentaram
101 similaridade genética com diferentes espécies e *formae speciales* de *F.oxysporum*
102 (Figura 1).





103 **Figura 1-** Árvore filogenética baseada na análise de Máxima Verossimilhança do
 104 gene TEF- 1 α de isolados de *Fusarium oxysporum* e de outros membros do gênero,
 105 com base em 10.000 replicações por bootstrap, e modelo GTR+I+G.

106 **Obtenção dos isolados**

107 Os isolados utilizados neste experimento foram oriundos de diferentes
 108 hospedeiros como bananeira, algodão, tomate, maracujá, feijão-caupi, algodão e
 109 mamona, obtidos da micoteca da Embrapa Mandioca e Fruticultura e solicitados à
 110 coleção Maria Menezes, conservados pelo método Castellani em água destilada
 111 estéril (ADE) e foram gentilmente cedidos para execução deste trabalho. Os
 112 isolados utilizados encontram-se listados na tabela1.

113 Foram utilizados 17 isolados monospóricos de *F. oxysporum*, sendo que 10
 114 deles pertencem à f. sp. *cubense* – FOC.

115 **Tabela 1.** Identificação e origem dos isolados utilizados para o experimento.

Isolados	Município	Identificação	Hospedeiro
CNPMF 2011. 6A	Porteirinha-MG	FOC	Bananeira
CNPMF 2011. 15A	Jaíba-MG	FOC	Bananeira
CNPMF 2011. 32A	Tancredo Neves-BA	FOC	Bananeira
CNPMF 2011. 36A	Juazeiro-BA	FOC	Bananeira
CNPMF 2011. 36B	Juazeiro-BA	FOC	Bananeira
CNPMF 2011. 39B	Juazeiro-BA	FOC	Bananeira
CNPMF 2011. 41A	Juazeiro-BA	FOC	Bananeira
CNPMF 2011. 61A	Bom Jesus da Lapa-BA	FOC	Bananeira
CNPMF 2011. 119B	Teolândia-BA	FOC	Bananeira
CNPMF 2011. 122B	Mossoró-RN	FOC	Bananeira

CNPMF 2011. 139B	Três cachoeiras –RS	<i>F. sacchari</i>	Bananeira
CNPMF 2011. 005	Cruz das Almas- BA	<i>F. o. f. sp.</i> <i>passiflorae</i>	Maracujá
CMM 2011.5	São João- PE	<i>F. o. f. sp.</i> <i>tracheiphilum</i>	Feijão-caupi
CMM 2007. 800	Irecê- BA	<i>F. o. f. sp.</i> <i>ricini</i>	Mamona
CMM 2002.1437	Campina Grande –PB	<i>F. o. f. sp.</i> <i>vasinfectum</i>	Algodão
CMM 2012. 3576	Campinas -SP	<i>F. o. f. sp.</i> <i>lactucae</i>	Alface
CMM 2001. 4115	Gama- DF	<i>F. o. f. sp.</i> <i>lycopersici</i>	Tomate

116 **Obtenção de mudas**

117 As mudas de bananeira utilizadas neste trabalho, foram obtidas a partir de
 118 cultivos *in vitro* e aclimatadas em substrato em casa de vegetação. As mudas das
 119 demais culturas inoculadas, foram obtidas através de sementes e o plantio destas,
 120 realizado em casa de vegetação em bandejas de plástico com 60 células, contendo
 121 substrato para plantas e fibra de coco, quando as plântulas apresentaram o
 122 segundo par de folhas verdadeiras e as mudas de bananeira tinham em média 100
 123 dias de micropropagadas, foram inoculadas.

124 Em bananeira as inoculações foram feitas em mudas variedade “Prata-anã”.
 125 Nos outros hospedeiros, as mudas foram obtidas de maracujá amarelo (*Passiflora*

126 *edulis* Sims f. *flavicarpa* Deneger); algodão (*Gossypium hirsutum*) variedade “FM
127 975 WS”; Feijão caupi (*Vigna unguiculata*) variedade “Nova Era”; Alface (*Lactuca*
128 *sativa*) variedade “Mônica SF 31”; Tomate (*Solanum lycopersicum*) variedade
129 “Santa Clara 5800” e Mamona (*Ricinus communis*).

130 **Produção do inóculo e inoculação**

131 Foram utilizadas duas metodologias de inoculação: a) Método imersão de
132 raízes (MIR) em suspensão de conídios; (b) Método areia e fubá de milho infestado
133 (MAFI) com *F. oxysporum*.

134 **a) Suspensão de conídios**

135 Para a produção do inóculo por suspensão de conídios, os isolados foram
136 multiplicados em placa de Petri contendo o meio BDA (Batata Dextrose Ágar),
137 mantidos em incubadora tipo BOD a 25°C por 7 a 10 dias. Em seguida as colônias
138 foram lavadas com 10 mL de água destilada para a remoção dos esporos com
139 auxílio de uma escova, obtendo uma suspensão. Esta suspensão foi filtrada em
140 gaze dupla e em seguida realizada a contagem dos micro e macro esporos
141 utilizando a câmara de Neubauer em microscópio óptico. Após a contagem ajustou-
142 se a concentração para 10^6 conídios mL⁻¹.

143 **b) Substrato Infestado**

144 Para a produção do inóculo por substrato infestado com *F. oxysporum* foi
145 usada a proporção de 5 partes de areia para 1 parte de fubá de milho. Esta mistura
146 foi submetida a autoclavagem por duas vezes em sacos plásticos. Em seguida
147 adicionados na mistura 10 discos do meio BDA contendo o *F. oxysporum*
148 umedecidos com 50 mL de ADE. Posteriormente, o material permaneceu incubado
149 por 15 dias em câmara de crescimento à 25 °C. Os sacos contendo a mistura foram
150 agitados a cada 4 dias para favorecer o crescimento e a colonização homogênea
151 do substrato pelo fungo. Após o período de incubação ajustou-se a concentração
152 para 10⁶ UFC grama⁻¹.

153 **Teste de patogenicidade: Postulados de Koch**

154 A patogenicidade foi obtida efetuando a inoculação cruzada dos isolados
155 adquiridos das plantas de bananeira em plantas de outras espécies citadas
156 anteriormente e destas em bananeira. Foram nove tratamentos para a bananeira
157 (sete isolados de *F. oxysporum* de diferentes hospedeiros e duas testemunhas,
158 uma absoluta e uma relativa) e com 12 tratamentos para as demais culturas (10
159 isolados de FOC e duas testemunhas, uma absoluta e uma relativa) com 10
160 repetições e duas plantas por unidade de parcela e sob delineamento inteiramente
161 casualizado

162 No método de inoculação por imersão de raízes na suspensão de esporos,
163 as mudas foram removidas cuidadosamente do substrato e suas raízes foram
164 lavadas em água corrente, e tiveram as extremidades cortadas e imersas na

165 suspensão por 60 minutos sendo homogeneizada a cada 10 minutos.
166 Posteriormente, realizado o replantio das mudas em vasos, contendo o substrato
167 com areia autoclavada. O tratamento testemunha absoluta, foi constituído por
168 mudas das culturas com seus sistemas radiculares imersos apenas em água
169 destilada estéril.

170 Para o método por MAFI, após o período de incubação, foi colocado 10
171 gramas do inóculo (10^6 UFC grama⁻¹) do substrato infestado abaixo das raízes das
172 mudas em copo descartáveis de 200 mL contendo substrato mais fibra de coco. As
173 mudas com dois pares de folhas verdadeiras foram transplantadas para os copos.
174 Como plantas controle foi utilizado o mesmo procedimento, com exceção que o
175 substrato não conteve o fungo.

176 **Avaliação dos sintomas: Incidência e Severidade da doença**

177 A patogenicidade foi avaliada, após a inoculação, por meio da observação
178 de sintomas de murcha e sintomas no sistema radicular das plantas. Apresentando
179 os sintomas, o patógeno foi re-isolado de tecidos sintomáticos para identificação e
180 comparação com as culturas originais.

181 Para a bananeira, a intensidade da doença foi avaliada aos 60 dias após a
182 inoculação (DAI) para o tratamento com inoculação por suspensão de esporos
183 (MIR), e aos 90 (DAI) para o tratamento com inoculação por (MAFI). A avaliação foi
184 realizada por meio da expressão dos sintomas externos, mediante a observação
185 do amarelecimento das folhas e expressão dos sintomas internos por meio da
186 observação da descoloração vascular causada pela infecção do patógeno.

187 As mudas de bananeiras foram classificadas pelo nível de intensidade da
188 infecção acusada pelo patógeno, onde foram atribuídas notas de acordo com as
189 seguintes escalas associadas aos sintomas da doença proposta por DITA, et al.,
190 2011: sintomas externos (1: ausência de sintomas; 2: amarelecimento inicial,
191 principalmente nas folhas mais baixas; 3: amarelamento de todas as folhas mais
192 baixas com alguma descoloração das folhas mais jovens; 4: Todas as folhas com
193 intenso amarelecimento; 5: Planta morta), sintomas internos: (1: Ausência de
194 sintomas; 2: rizoma com descoloração inicial; 3: ligeira descoloração do rizoma ao
195 longo de todo o sistema vascular; 4: rizoma com a maioria dos tecidos internos
196 mostrando necrose; 5: Rizoma totalmente necrosado). Para a análise estatística,
197 as médias dos valores de incidência das dez repetições, foram agrupados em três
198 repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância utilizando o
199 programa SISVAR e as médias foram comparadas pelo teste Scott-Knott, ao nível
200 de 0,5% de probabilidade.

201 Os dados de avaliação dos sintomas na bananeira, foram transformados
202 para índice da doença (ID) (MACKINNEY, 1923) e submetidos a análise de
203 variância utilizando o programa SISVAR, as médias também foram comparadas
204 pelo teste Scott-Knott a 0,5%.

$$205 \quad ID (\%) = \frac{\sum(\text{nota atribuída} \times \text{número de plantas com a nota atribuída}) \times 100}{(\text{número total de plantas avaliadas} \times \text{nota máxima da escala})}$$

206 Índice de doença de MacKinney, 1923

207 Para as demais culturas, foi avaliada a intensidade da doença após 60 dias
208 (DAI), observando os sintomas externos, como murcha e/ou perda de folhas, e
209 sintomas internos da descoloração vascular em microscópio estereoscópico.

210 **Reisolamento do patógeno**

211 As mudas que apresentaram sintomas de murcha foram coletadas e partes
212 do caule e raiz foram cortadas e desinfestadas por um minuto em etanol 70%, em
213 seguida por um minuto em hipoclorito de sódio 0,5% e por último lavadas por três
214 vezes em água destilada estéril. Os segmentos desinfestados foram transferidos
215 para o meio Ágar-água (AA) e após dois dias apresentando o crescimento micelial,
216 foi repicado para o meio BDA e as colônias crescidas foram analisadas
217 morfológicamente para a confirmação do agente etiológico.

218 **Obtenção de culturas monospóricas de *F. oxysporum***

219 Para a obtenção das culturas monospóricas, cada isolado obtido
220 anteriormente pelo reisolamento foi crescido em meio BDA por sete dias em BOD.
221 Discos de aproximadamente cinco milímetros do meio de cultura contendo micélio,
222 foram transferidos para tubos contendo 10 mL de ADE, e agitados por 30 segundos.
223 A partir desta suspensão realizaram-se diluições até 10^{-4} . Alíquotas de 100 μ L de
224 cada série de diluição foram transferidas para placas de Petri contendo meio AA e
225 espalhadas na placa, com o uso de alça de Drigalski. Após 12 horas, foi realizada
226 a visualização das placas em microscópio óptico, para monitorar a germinação de
227 conídios individualizados. Após a localização de um esporo germinado
228 completamente isolado na placa, com o auxílio de agulha esterilizada, realizou-se
229 a transferência do mesmo para placas de Petri contendo BDA, obtendo-se assim
230 culturas monospóricas.

231 Os isolados obtidos do experimento encontram-se preservados pelo método
232 Castellani em água destilada estéril e depositados na Coleção de Cultura de
233 Fungos Fitopatogênicos do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Mandioca e
234 Fruticultura em Cruz das Almas –Ba.

235 **Caracterização morfológica**

236 No experimento cada isolado foi caracterizado, quanto à coloração da
237 colônia, crescimento micelial e para características micromorfológicas (LESLIE &
238 SUMMEREL, 2006), utilizando o microscópio óptico com o programa LAs v4.7.

239 Para a taxa de crescimento micelial, um disco de micélio de 5,0 mm foi
240 transferido para uma placa de Petri contendo meio de cultura BDA, em seguida as
241 placas foram incubadas a 25°C por 10 dias, quando foi tomada a medida do
242 diâmetro ortogonal das colônias formadas. O mesmo procedimento foi realizado
243 para avaliar a pigmentação das colônias.

244 Para as características micromorfológicas, um disco de micélio de cada
245 fungo reisolado foi transferido para uma placa de Petri contendo meio de cultura
246 Synthetic nutrient-poor agar (SNA), contendo fragmentos secos e esterilizados de
247 folhas de cravo (*Dianthus caryophyllus* L.). Essas placas foram incubadas a 25°C
248 por 14 dias, para observação em microscópio óptico das características como a
249 presença ou não e cor de esporodóquios; frequência, tamanho, formato e origem
250 de macro e micro conídios, comprimento de fiálides; presença ou não de
251 clamidósporo e presença ou não de macro e micro conídios em falsas cabeças.

252 **RESULTADOS**

253 **1.0 Gama de hospedeiros - Incidência de sintomas externos e internos em** 254 **culturas inoculadas com FOC, sob os métodos de inoculação por imersão** 255 **de raízes em suspensão de esporos e areia-fubá de milho infestado com o** 256 **fungo.**

257 O experimento foi avaliado 60 dias após a inoculação, e os sintomas de
258 murcha começaram entre 8 e 45 (DAI). Todos os isolados de FOC avaliados
259 mostraram sintomas às culturas trabalhadas. O percentual de incidência de doença
260 nas plantas, variou de 0 a 100%. Observou-se que houve uma diferença entre os
261 tratamentos, nas incidências externa e interna e no método de inoculação.

262 **Patogenicidade em Feijão-caupi**

263 Os resultados em feijão caupi, mostraram que as plantas apresentaram
264 sintomas bem característico da doença, inicialmente com perda da turgescência,
265 amarelecimento e perda das folhas, sendo denominadas essas características
266 como reflexo. A queda das folhas começou incidindo sobre as folhas mais velhas,
267 progredindo em algumas plantas até parte apical, levando algumas plantas à morte.

268 A partir de um corte longitudinal, iniciando da haste até as raízes foi possível
269 observar os sintomas internos como, escurecimento e necrose no sistema vascular
270 o que evidencia a presença dos patógeno nos vasos, tanto na testemunha relativa
271 como nos outros tratamentos, principalmente naqueles com alta incidência. Em
272 plantas submetidas apenas ao tratamento testemunha absoluta, ou seja, não

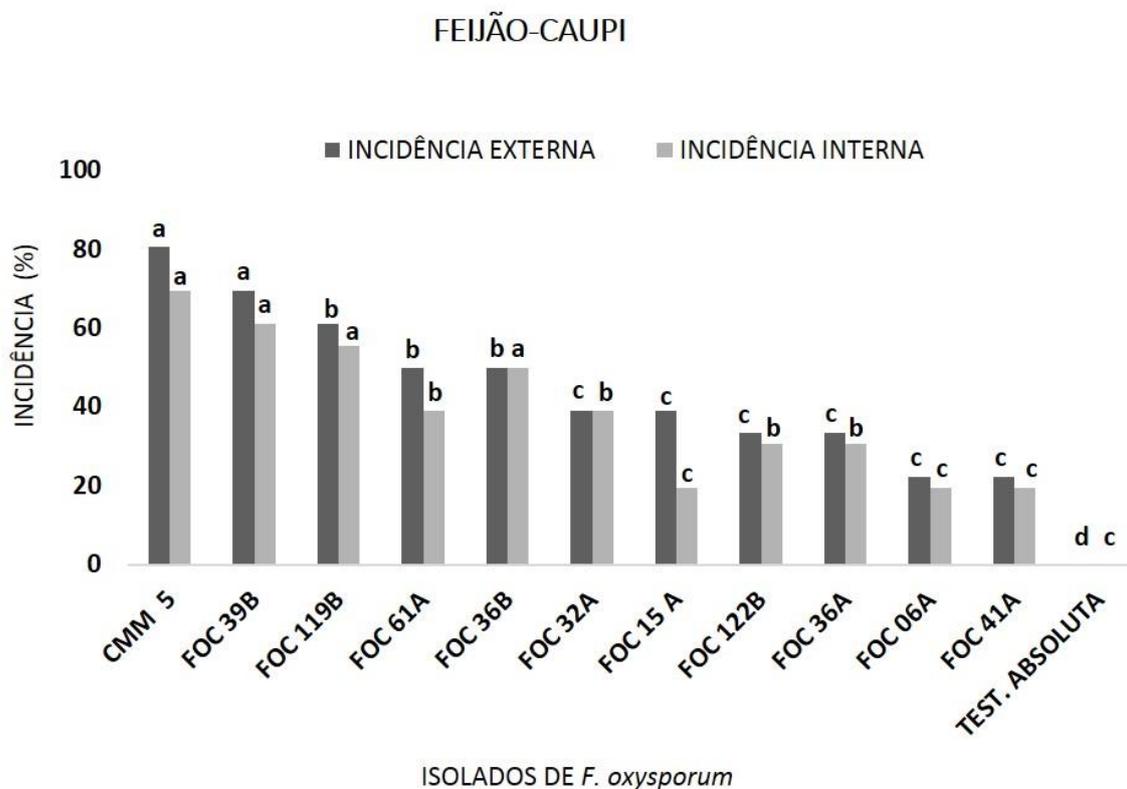
273 inoculada, não houve sintomas (Figura 2). Estes sintomas foram observados em
274 plantas inoculadas por substrato areia-fubá infestado, para o método imersão de
275 raízes, não houve sintomas da doença, as plantas conseguiram finalizar o ciclo da
276 cultura mesmo após a inoculação.



277 **Figura 02** - Sintomas externos (A, B, C e D) e sintomas internos (E, F e G) em
278 plantas de Feijão-caupi inoculadas por Imersão de Raízes. Planta sadia não
279 inoculada (A); Planta inoculada com *F.oxysporum f. sp. tracheiphilum* CMM 5 (B e
280 E); Planta inoculada com FOC 39B (C e F) e Planta inoculada com FOC 119B (D e
281 G).

282 Os tratamentos que mais se destacaram em relação aos sintomas externos
283 em feijão-caupi, foram os isolados CMM 5, sendo a testemunha relativa e o FOC
284 39B, que apresentaram média acima de 60% e não se diferiram estatisticamente.
285 Resultado semelhante ocorreu ao considerar a incidência interna em que, esses
286 mesmos isolados foram os melhores seguidos dos tratamentos FOC 119B e FOC
287 36B (Figura 03), não havendo diferença significativa entre eles. Para o método

288 imersão de raízes, não houve sintomas da doença, as plantas conseguiram finalizar
 289 o ciclo da cultura mesmo após a inoculação.

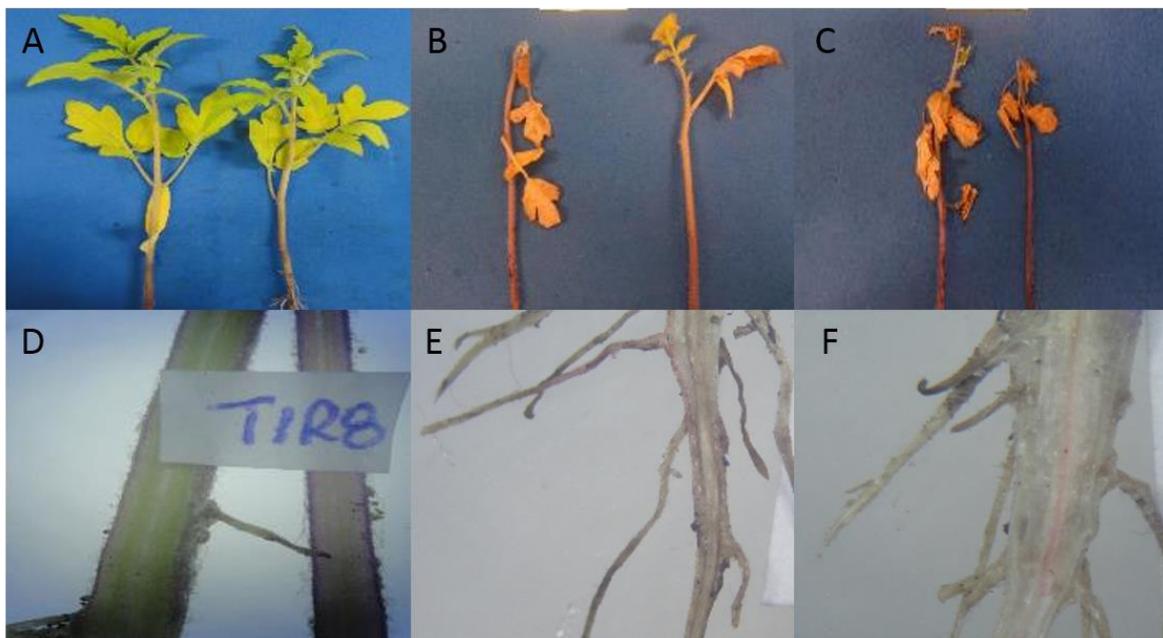


290 **Figura 03** - Relação entre a incidência externa e interna em mudas de feijão-caupi,
 291 inoculadas por Imersão de Raízes (MIR) e os isolados de FOC. Média seguidas de
 292 mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ($p > 0,05$).

293 Patogenicidade em Tomate

294 Os sintomas em tomate avaliando o método areia-fubá infestado, foram bem
 295 característicos nas mudas, perda do vigor, paralização no crescimento murcha e
 296 perda de folhas. Internamente os sintomas foram observados mais fracamente mas

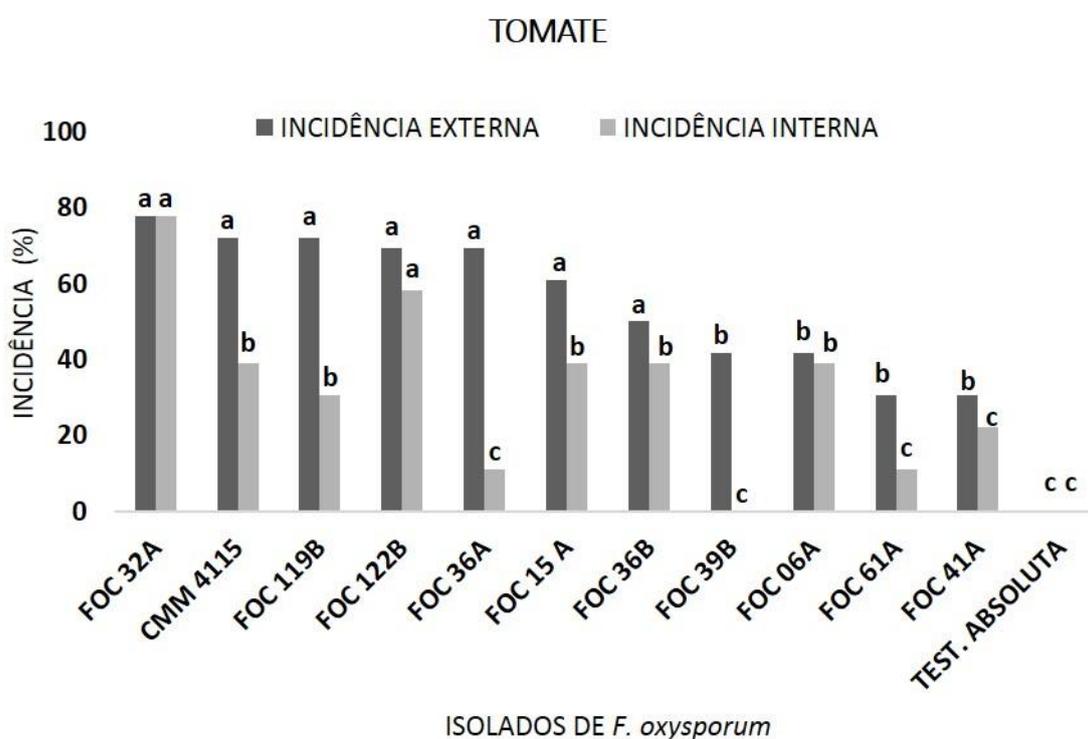
297 mesmo assim, foi possível verificar a descoloração nos vasos xilemáticos (Figura
 298 04). Por imersão de raízes, as mudas de tomate não mostraram sintomas da
 299 doença, conseguindo assim como o Feijão-caupi, completar o seu ciclo.



300 **Figura 04** - Sintomas externos (A, B e C) e sintomas internos (D, E e F) em plantas
 301 de tomate inoculadas por MAFI. Planta sadia (A e D); Planta inoculada com *F.*
 302 *oxyporum* f. sp. *lycopersici* CMM 4115 (B e E) e Planta inoculada com FOC 32A (C
 303 e F).

304 Para as inoculações realizadas em tomate, os resultados mostram que as
 305 médias obtidas foram semelhantes e expressivos na maioria dos tratamentos. Os
 306 tratamentos com os isolados FOC 32A e FOC 119B apresentaram as maiores
 307 médias de incidência de sintomas. Os isolados FOC 119B, FOC 122B, FOC 36A,
 308 FOC 15A e FOC 36B, foram capazes de causar sintomas em proporção
 309 estatisticamente igual a testemunha relativa (CMM 4115), os outros tratamentos
 310 com os isolados FOC 39B, FOC 06A, FOC 61A e FOC 41A, apresentaram as
 311 menores médias e não diferiram estatisticamente (Figura 05).

312 Internamente, quase todos os isolados foram capazes de causar sintomas,
 313 exceto, o tratamento FOC 39 B. O tratamento com o isolado FOC 32A se comportou
 314 de forma semelhante na avaliação externa, sendo também o destaque mas não
 315 diferindo estatisticamente do tratamento FOC 122B. A testemunha relativa, CMM
 316 4115, internamente apresentou um resultado com baixa incidência de plantas
 317 apresentando abaixo dos 40% e não diferiu estatisticamente dos tratamentos FOC
 318 36B, FOC 06A, FOC 15A e FOC 119B (Figura 05).



319 **Figura 05** - Relação entre a incidência de sintomas externos e internos em mudas
 320 de Tomate, inoculadas por Areia-Fubá infestado (MAFI) e os isolados de *F.*
 321 *oxysporum*. Média seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-
 322 Knott ($p>0,05$).

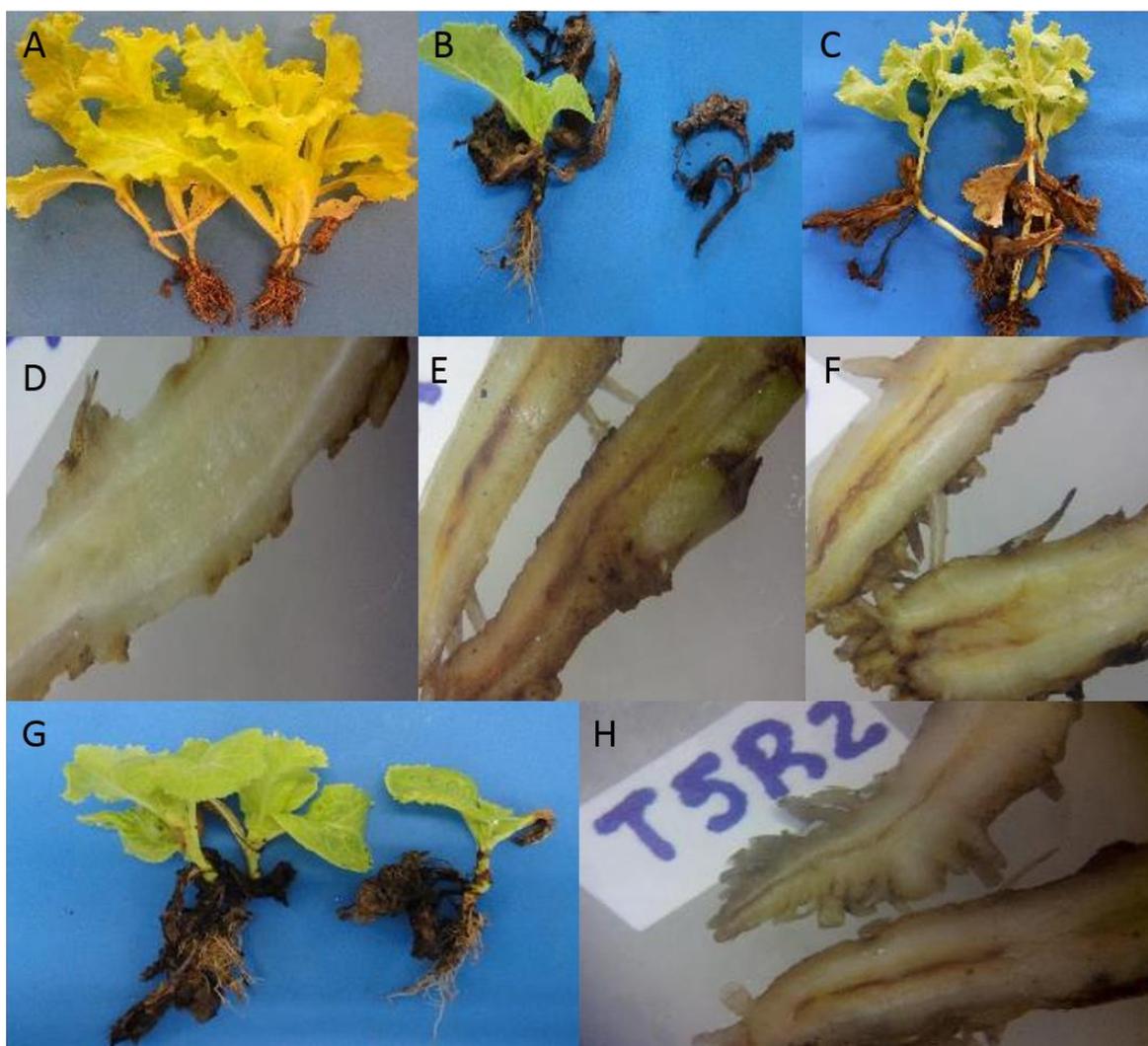
323 **Patogenicidade em Alface**

324 A patogenicidade testada em mudas de alface por imersão de raízes e por
325 areia-fubá infestado, mostrou uma sintomatologia bem característica da doença,
326 começando com um leve amarelecimento foliar ou verde pálido e com uma redução
327 no crescimento da planta. Com o progresso da doença, as folhas mais velhas
328 passaram a ficar murchas totalmente, levando a planta ao colapso. Com o corte no
329 sentido longitudinal no caule dessas plantas com sintomas, foi possível notar uma
330 coloração escura no sentido ascendente dos vasos condutores das plantas, o
331 tratamento com a testemunha absoluta, não mostrou sintomas. (Figura 06).

332 Para o método de inoculação com substrato areia-fubá infestado, a
333 sintomatologia foi a mesma observada no método anterior, mesmo levando mais
334 tempo para mostrar sintomas externos, o que fez com que, as mudas se
335 desenvolvessem mais, as plantas com o tratamento testemunha absoluta, não
336 mostraram sintomas (Figura 07).



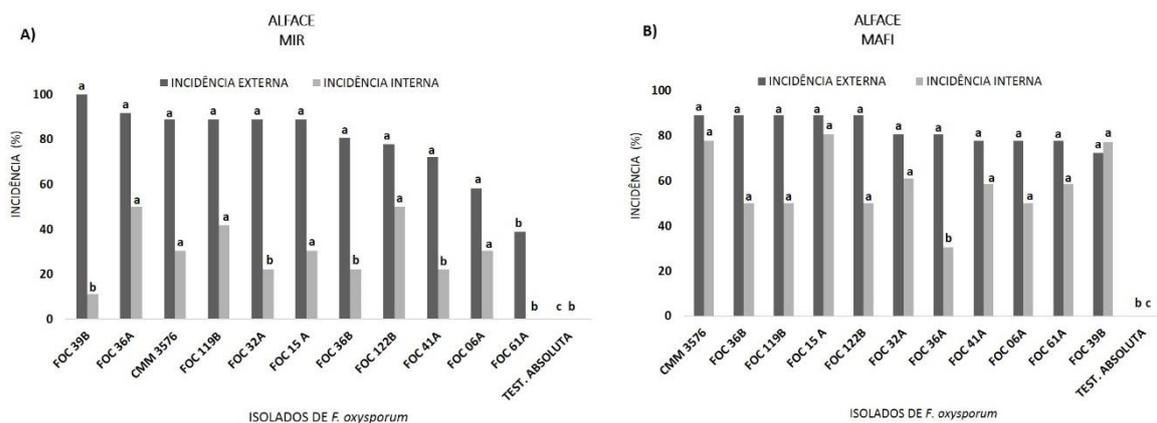
337 **Figura 06** - Sintomas externos (A, B, C e G) e sintomas internos (D, E, F e H) em
 338 plantas de Alface inoculadas por Imersão de Raízes. Planta sadia (A e D); Planta
 339 inoculada com *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* CMM 3576 (B e E); Planta inoculada
 340 com FOC 36A (C e F) e planta inoculada com FOC 39B (G e H).



341 **Figura 07** - Sintomas externos (A, B, C e G) e sintomas internos (D, E, F e H) em
 342 plantas de Alface inoculadas Areia-Fubá infestado. Planta sadia (A e D); Planta
 343 inoculada com *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* CMM 3576 (B e E); Planta inoculada
 344 com FOC 15A (C e F) e planta inoculada com FOC 39B (G e H).

345 No experimento com mudas de alface, das 240 plantas inoculadas por MIR
 346 169 (70,4%) mostraram sintoma externos. Essa alta incidência de sintomas foi
 347 observada na maioria dos tratamentos, evidencia-se os tratamentos com os
 348 isolados FOC 39B e FOC 36A, mesmo não diferenciando estatisticamente da
 349 testemunha relativa (CMM 3576) sendo este, isolado de alface. Porém

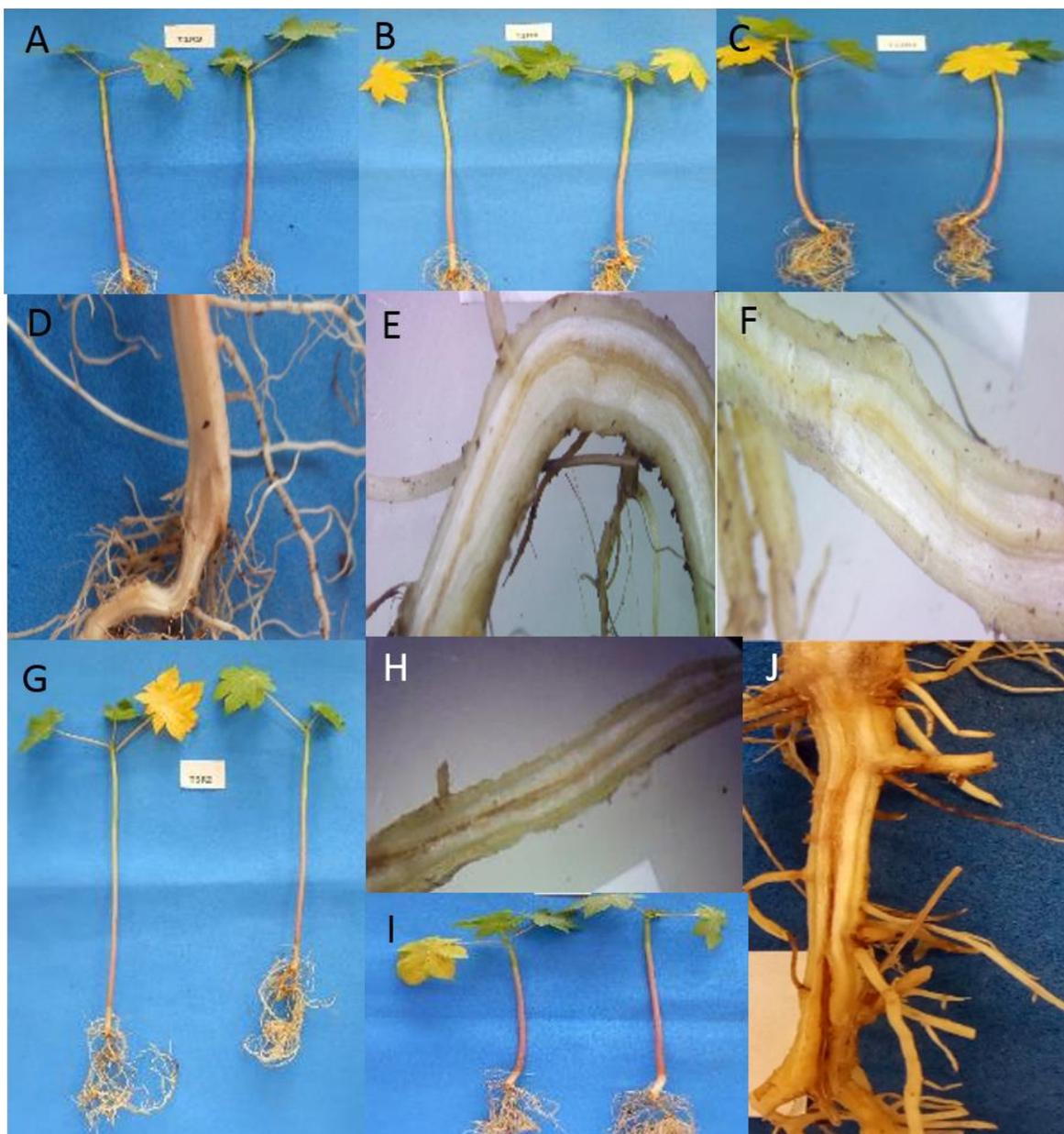
350 internamente, os resultados não foram muito elevados, ficando todos os
 351 tratamentos com incidência menor que 60%. Sendo as maiores incidências dos
 352 tratamentos FOC 122B, FOC 36A mas, não diferenciaram estatisticamente dos
 353 tratamentos FOC 119B, CMM 3576 (testemunha relativa), FOC 15A e FOC 06A.
 354 (Figura 08-A). Os resultados do teste utilizando MAFI, os resultados foram bem
 355 expressivos externamente, não havendo diferença estatística entre os tratamentos.
 356 Internamente, o isolado FOC 15A abrangeu mais de 80% dos sintomas ficando
 357 muito semelhante ao resultado expresso pelo tratamento com o isolado de alface
 358 CMM 3576 e não diferindo estatisticamente também do tratamento FOC 39B
 359 (Figura 08-B).



360 **Figura 08** - Relação entre a incidência de sintomas externos e internos em mudas
 361 de Alface inoculadas por método imersão de raízes – MIR (A) e Areia-Fubá
 362 infestado - MAFI (B) e os isolados de *F. oxysporum*. Média seguidas de mesma
 363 letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ($p>0,05$).

364 Patogenicidade em mamona

365 Os sintomas expressos por mamona no experimento de patogenicidade,
366 foram caracterizados pelo amarelecimento das folhas mais velhas para as mais
367 novas e queda das mesmas. Internamente, após os corte longitudinal na parte
368 radicular das plantas que mostravam sintomas, foi verificado os sintomas internos
369 como, a descoloração pardo avermelhada, tanto nos tratamentos com a
370 testemunha relativa, isto é, com o isolado da mamona, como nas plantas inoculadas
371 com FOC, isto pelo método de inoculação imersão de raízes (Figura 09). Pelo
372 método areia-fubá infestado, os sintomas foram os mesmo, porém, com intensidade
373 menor e, mais tardio no aparecimento de sintomas (Figura 10). Em ambos os
374 métodos de inoculação, não houve sintoma no tratamento com a testemunha
375 absoluta.



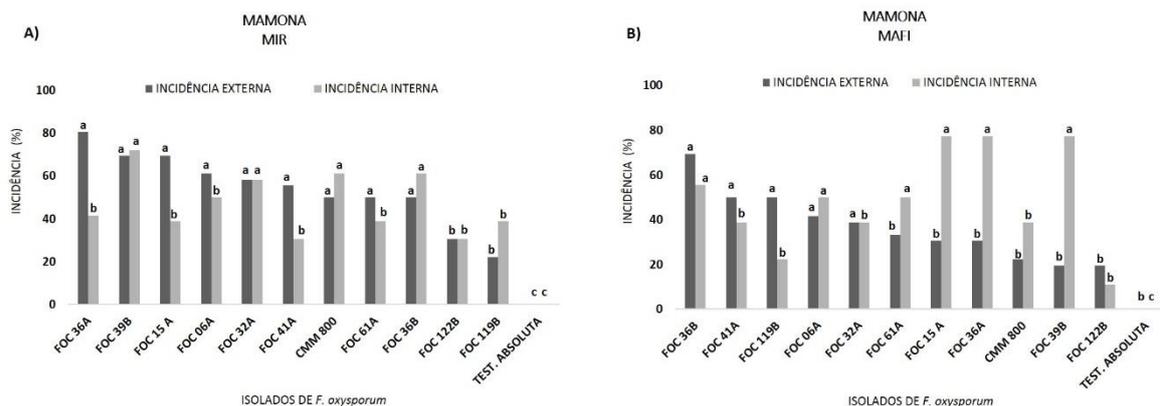
376 **Figura 09** - Sintomas externos (A, B, C, G e I) e sintomas internos (D, E, F, H e J)
 377 em plantas de Mamona inoculadas por Imersão de Raízes. Planta sadia (A e D);
 378 Planta inoculada com *F. oxysporum* f. sp. *ricini* CMM 800 (B e E); Planta inoculada
 379 com FOC 36B (C e F); Planta inoculada com FOC 39B (G e H) e Planta inoculada
 380 com FOC 32A (I e J).



381 **Figura 10-** Sintomas externos (A, B, C, G e I) e sintomas internos (D, E, F, H e J)
 382 em plantas de mamona inoculadas por Areia-fubá infestado. Planta sadia (A e D);
 383 Planta inoculada com *F. oxysporum* f. sp. *ricini* (B e E); Planta inoculada com FOC
 384 36B (C e F); Planta inoculada com FOC 15A (G e H) e Planta inoculada com FOC
 385 39B (I e J).

386 Os resultados para o teste com mamona, revelaram que FOC 36A, FOC 39B,
 387 foram melhores na patogenicidade mas diferenciou estatisticamente apenas dos
 388 tratamentos FOC 119B e FOC 122B para sintomas externos. Internamente, os
 389 tratamentos com isolado de bananeira FOC 39B, alcançou o melhor resultado, não
 390 diferenciando estatisticamente dos tratamentos com a testemunha relativa CMM
 391 800, FOC 36B, FOC 32A e FOC 06A (Figura 11-A) para o método MIR. Para a

392 inoculação por MAFI, o melhor resultado foi com o tratamento com FOC 36B,
 393 apesar de não diferir estatisticamente de FOC 41A, FOC 119B, FOC 06A e FOC
 394 32A. Internamente as médias os melhores tratamentos FOC 15A, FOC 36A e FOC
 395 39B que atingiram quase 80% de incidência mas não diferindo estatisticamente de
 396 FOC 06A, FOC 61A e FOC 36B (Figura 11-B).



397 **Figura 11** - Relação entre a incidência de sintomas externos e internos em mudas
 398 de Mamona, inoculadas por método imersão de raízes – MIR (A) e Areia-Fubá
 399 infestado - MAFI (B) e os isolados de *F. oxysporum*. Média seguidas de mesma
 400 letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ($p>0,05$).

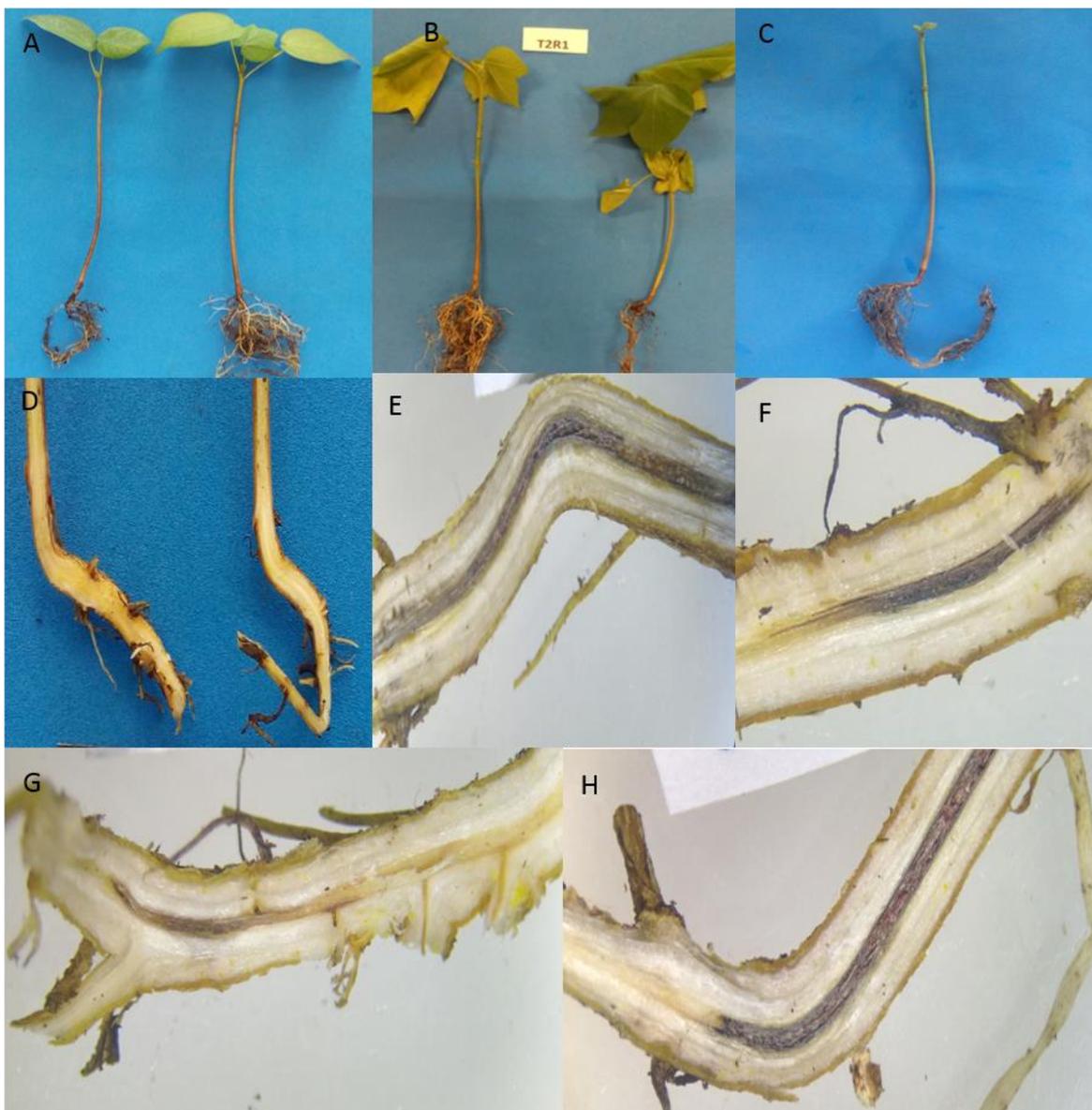
401 **Patogenicidade em Algodão**

402 Em algodão, a inoculação pelo método imersão de raízes, os sintomas foram
 403 característicos da doença, internamente mais que externamente. Se mostraram da
 404 mesma forma que as demais culturas inoculadas, com perda na coloração foliar,
 405 passando de um verde forte para um verde pálido com queda de folhas apenas em
 406 algumas plantas e com crescimento reduzido. Internamente, também houve a
 407 descoloração vascular, principalmente em plantas inoculadas com FOC, não
 408 ocorrendo sintomas na testemunha absoluta (Figura 12). Já pelo outro método de

409 inoculação, areia-fubá, praticamente não houve sintoma externo, poucas plantas
410 apareceram sintomas, porém internamente o resultado foi melhor, os sintomas de
411 descoloração estava presente em todos os tratamentos, exceto o da testemunha
412 absoluta (Figura 13).



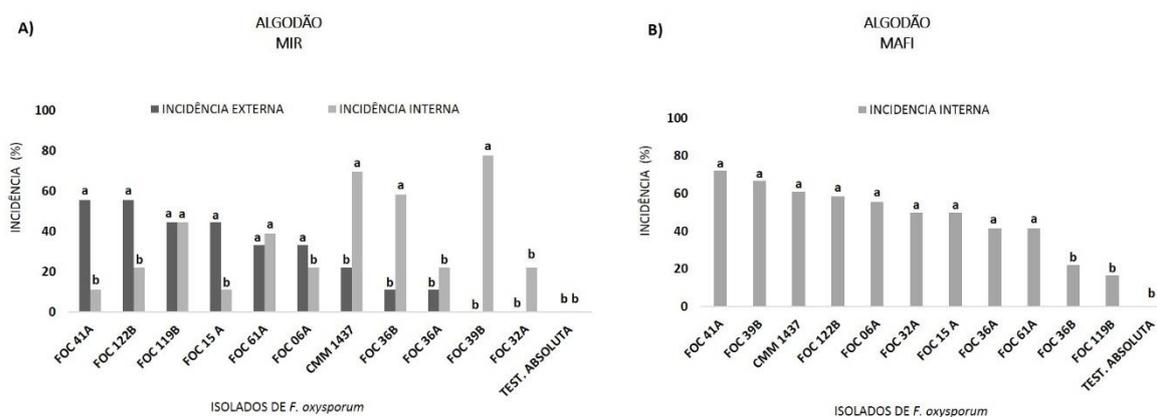
413 **Figura 12** - Sintomas externos (A, B e C) e sintomas internos (D, E e F) em plantas
414 de Algodão inoculadas por Imersão de Raízes. Planta sadia (A e D); Planta
415 inoculada com *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* CMM 1437 (B e E); Planta inoculada
416 com FOC 39B (C e F).



417 **Figura 13** - Sintomas externos (A, B e C) e sintomas internos (D, E, F, G e H) em
 418 plantas de Algodão inoculadas por Areia-Fubá infestado. Planta sadia (A e D);
 419 Planta inoculada com *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* CMM 1437 (B e E); Planta
 420 inoculada com FOC 06A (C e F); Planta inoculada com FOC 41A (G) e planta
 421 inoculada com FOC 39B (H).

422 Em algodão os melhores resultados externos para o método imersão de
 423 raízes foram com os tratamentos FOC 41A e FOC 122B que apresentaram

424 estatisticamente a mesma incidência enquanto que o tratamento FOC 39B não
 425 apresentou nenhum sintoma externo mas internamente mostrou o melhor
 426 resultado; o mesmo ocorreu com a testemunha relativa, CMM 1437 (Figura 14-A),
 427 Para o método MAFI, os sintomas foram apenas internos, sendo os melhores
 428 tratamentos, FOC 41A e FOC 39B e os únicos tratamentos a diferir estatisticamente
 429 dos demais foram FOC 36B e FOC 119B (Figura 14-B).



430 **Figura 14** - Relação entre a incidência de sintomas externos e internos em mudas
 431 de Algodão inoculadas por Imersão de Raízes – MIR (A) e Areia-Fubá infestado –
 432 MAFI (B) e os isolados de *F. oxysporum*. Média seguidas de mesma letra não
 433 diferem entre si pelo teste Scott-Knott ($p>0,05$).

434 **Patogenicidade em Maracujá**

435 Os sintomas em maracujá por imersão de raízes, foram muito particulares.
 436 As mudas tiveram seu crescimento muito comprometido, as folhas mais velhas
 437 amareleciam e caíam, a murcha não foi uma característica da doença, presente
 438 neste experimento com maracujá. Não houve sintomas internos, porém todas as

439 plantas foram coletadas para realizar o isolamento (Figura 15). Para o método
440 areia-fubá infestado, os sintomas externos foram mais fracos, mas com a murcha
441 característica em alguns tratamentos. Internamente, foi possível detectar que
442 houve sintomas na maioria dos tratamentos, com a descoloração pardo
443 avermelhada nos vasos condutores (Figura 16).

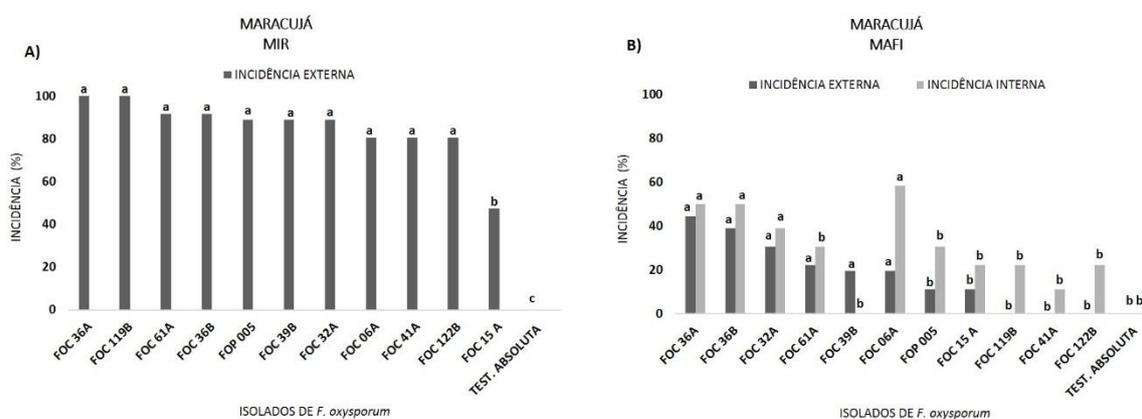


444 **Figura 15** - Sintomas externos (A, B e C) e sintomas internos (D, E e F) em plantas
445 de Maracujá inoculadas por Imersão de Raízes. Planta sadia (A e D); Planta
446 inoculada com *F.oxysporum* f sp. *passiflorae* FOP 005 (B e E); Planta inoculada
447 com FOC 36A (C e F).



448 **Figura 16** - Sintomas externos (A, B, C e G) e sintomas internos (D, E, F e H) em
 449 plantas de Maracujá inoculadas por Areia-Fubá infestado. Planta sadia (A e D);
 450 Planta inoculada com *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* FOP 005 (B e E); Planta
 451 inoculada com FOC 06A (C e F); Plantas inoculadas com FOC 36A (G e H).

452 O maracujá inoculado por imersão de raízes, mostrou um resultado muito
 453 convincente sobre a doença, todos os isolados mostraram uma alta incidência
 454 externa da doença. Entretanto, internamente esse resultado não refletiu o externo,
 455 apenas os tratamentos com FOC 36A e a testemunha relativa FOP 005 mostraram
 456 sintomas e apenas com uma parcela cada, das 10 repetições (Figura 17-A). Por
 457 MAFI, internamente houve resultados melhores, onde o tratamento FOC 06A, foi o
 458 melhor em incidência, não diferindo estatisticamente de FOC 36A, FOC 36B e FOC
 459 32A (Figura 17-B).



460 **Figura 17** - Relação entre a incidência de sintomas internos em mudas de Maracujá
 461 inoculadas por Imersão de Raízes – MIR (A) e sintomas externos e internos
 462 inoculadas por Areia-Fubá infestado – MAFI (B) e os isolados de FOC. Média
 463 seguida de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ($p>0,05$).

464 **Classificação da incidência em classes da doença, causada por FOC em** 465 **diferentes hospedeiros**

466 O resultado para os isolados provenientes de banana, quando inoculados
 467 nos diferentes hospedeiros e agrupados, foi utilizado uma escala de 0 a 2 de acordo

468 com o grau de incidência: não patogênico (0= 0-20%), oportunista (1= 20-60%) e
469 patogênico (2= >60%) que mostrou que houve uma proximidade dos valores de
470 incidência no hospedeiro e na bananeira em alguns tratamentos.

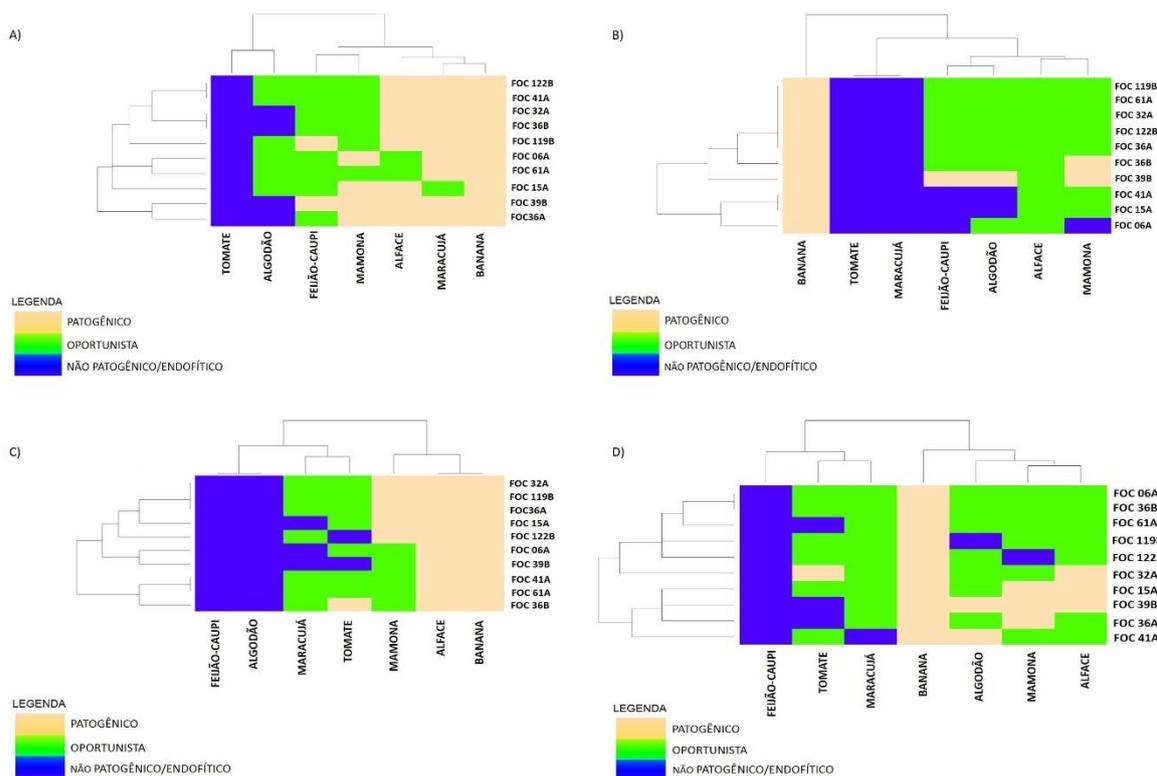
471 O agrupamento hierárquico foi baseado numa matriz de similaridade da
472 diferença da expressão de incidência dos isolados, permitindo uma visão geral de
473 incidência causada por FOC em diferentes hospedeiros (Figura 18). Os dados
474 representam as comparações por patogenicidade de FOC em seu hospedeiro
475 original, isto é, na bananeira e, nas demais espécies inoculadas. As cores estão
476 associadas a similaridade: quanto mais claro (bege) mais similar ao hospedeiro
477 original e patogênico é o comportamento do isolado.

478 Os resultado para sintomas externos em maracujá e alface inoculados por
479 imersão de raízes, a maioria dos isolados foram considerados patogênicos, as
480 demais culturas a maioria dos tratamentos foram considerados oportunistas ou não
481 patogênicos (Figura 18-A). Os resultados mostram que o isolado FOC 39B foi
482 patogênico, levando em consideração os sintomas internos e inoculação por
483 imersão de raízes, em três culturas: caupi, mamona e algodão. A mamona, além
484 do FOC 39B que apresentou um bom resultado, FOC 36B também foi patogênicos
485 a cultura (Figura 18-B). Os outros tratamentos foram considerados oportunistas,
486 mesmo alcançando a metade ou até mais de incidência. O maracujá, não recebeu
487 nenhuma nota 2 internamente, apesar da alta incidência avaliando os sintomas
488 externos, na inoculação por imersão de raízes.

489 Todos os isolados de FOC, inoculados em alface pelo método MAFI,
490 incitaram sintomas externos em 100% das plantas inoculadas, comportamento este
491 igual ao isolado obtido do hospedeiro original, CMM 3576. Para o tomate, houve

492 uma alta incidência, mas apenas o tratamento FOC 36B foi considerado como
493 patogênico a cultura (Figura 18-C). Internamente, no tomate o resultado com FOC
494 32A ficou mais proeminente que os demais, sendo o único considerado patogênico
495 e mamona recebeu nota 2 em três tratamentos, FOC 39B, FOC 36B e FOC 15A;
496 Para a alface FOC 39B, FOC 32A e FOC 15A foram considerados patogênicos a
497 cultura. No algodão, destaque novamente para FOC 39B e FOC 41A (Figura 18-
498 D).

499 Para algumas culturas a inoculação com isolados de FOC, foram ainda
500 melhores que aquelas mudas que receberam a testemunha relativa. Foi o caso de,
501 caupi, mamona e alface inoculados por imersão de raízes e mamona e tomate por
502 MAFI.



503 **Figura 18** - Agrupamento hierárquico da incidência de sintomas externos e
 504 internos em diferentes hospedeiros por Imersão de Raízes - MIR (A e B) e por Areia-
 505 Fubá infestado - MAFI (C e D), causados por isolados de FOC em Feijão caupi;
 506 algodão; Maracujá; Mamona; Tomate; Alface e Bananeira.

507 **Comparativo da incidência da doença no hospedeiro original e na bananeira**

508 Os isolados de *F. oxysporum* originários de diferentes hospedeiros, quando
 509 inoculados na bananeira, tiveram um resultado semelhante quando inoculados em
 510 seus hospedeiros originais, ou até mais agressivo. Tanto externamente como
 511 internamente na bananeira, os sintomas foram bem característicos da doença,
 512 levando em consideração os dois métodos de inoculação. Externamente na
 513 primeira inoculação feita por imersão de raízes (MIR), todos os isolados mostraram
 514 sintomas tanto em seus hospedeiros originais como na bananeira. Internamente

515 apenas os isolados de feijão-caupi, mamona e algodão causaram uma incidência
516 alta em seus respectivos hospedeiros, enquanto que na bananeira todos os
517 isolados causaram sintoma interno e com incidência acima de 50%. Na segunda
518 inoculação realizada por areia-fubá infestado (MAFI), apenas os isolados de alface
519 (CMM 3576) e de tomate (CMM 4115) foram considerados patogênicos ao seu
520 hospedeiro original, enquanto que na bananeira avaliando apenas os sintomas
521 externos, todos foram considerados patogênicos. Quanto aos sintomas internos,
522 apenas o tratamento com o isolado do algodão (CMM 1437) foi considerado
523 patogênico tanto para seu hospedeiro original quanto para a bananeira.

524 **2.0 Incidência de sintomas internos e externos em bananeira, causada por** 525 **diferentes formae speciales de *F. oxysporum***

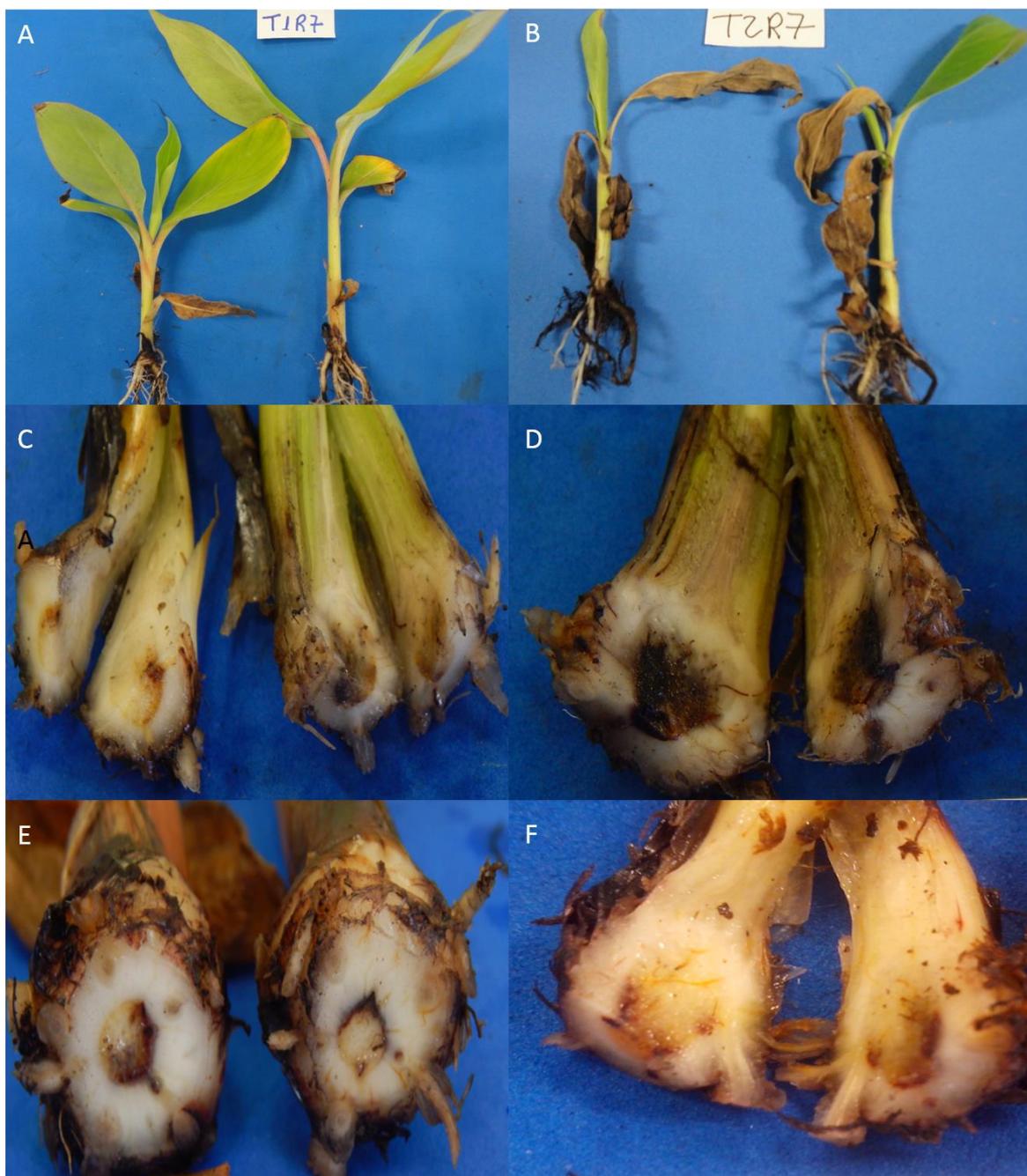
526 O experimento foi avaliado após 60 dias (DAI) para o tratamento com MIR,
527 e aos 90 dias (DAI) para o tratamento com inoculação por MAFI. Os sintomas
528 característicos do fusariose observados em bananeira no experimento com imersão
529 de raízes, foram: amarelecimento progressivo das folhas mais velhas para as mais
530 novas, posteriormente a murcha dessas folhas junto ao pseudocaule e no
531 tratamento com a testemunha relativa, isto é, com FOC, em algumas parcelas,
532 morte da planta. Internamente, notou-se uma incidência alta, alcançando em alguns
533 tratamentos, médias equivalentes ao da testemunha relativa (Figura 19).

534 Pelo método areia-fubá de milho infestado os sintomas demoraram a
535 aparecer, foi necessário um tempo maior de espera para avaliação e estes se
536 caracterizaram pelo amarelecimento das folhas mais velhas, conseguindo em
537 alguns tratamentos progredir para folhas mais jovens mas de uma forma mais lenta.

538 Os sintomas internos por sua vez, foram muito intensos em relação à área
 539 lesionada, conseguindo alguns tratamentos, causar lesões maiores que no
 540 tratamento com FOC (Figura 20).



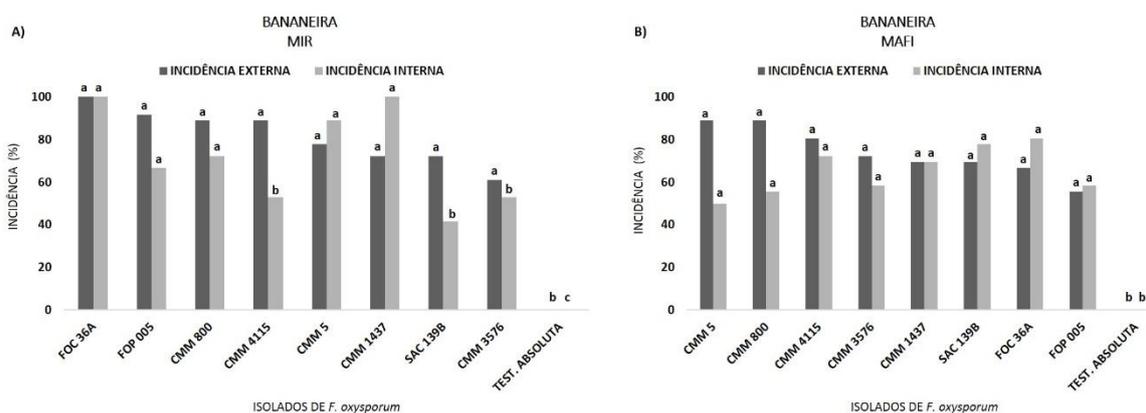
541 **Figura 19** - Sintomas externos (A, B, C, D, I e K) e sintomas internos (E, F, G, H, J
 542 e L) em plantas de bananeira 'Prata-anã' por imersão de raízes - MIR. Planta sadia
 543 (A e E); Planta inoculada com FOC 36A (B e F); Planta inoculada com *F.*
 544 *oxysporum*. f. sp. *tracheiphilum* (C e G); Planta inoculada com *F. oxysporum*. f. sp.
 545 *vasinfectum* (D e H); Planta inoculada com *F. oxysporum*. f. sp. *ricini* (I e J) e Planta
 546 inoculada com *F.oxysporum*. f. sp. *passiflorae* (K e L).



547 **Figura 20** – Sintomas externos (A e B) e Sintomas internos (C, D, E e F) em plantas
 548 de bananeira 'Prata-anã' por areia-fubá infestado - AF. Planta sadia, não inoculada
 549 (A); Planta inoculada com FOC 36A (B e C); Planta inoculada com *F. sacchari*, SAC
 550 139B (D); Planta inoculada com *F. oxysporum*. f. sp *lycopersici* CMM4115 (E) e
 551 planta inoculada com *F. oxysporum*. f. sp. *vasinfectum* CMM1437 (F).

552 Os resultados dos isolados inoculados na bananeira por imersão de raízes,
 553 avaliando os sintomas externos mostraram que todos os isolados manifestaram
 554 sintomas em mais de 60% das mudas não havendo diferença significativa entre os
 555 tratamentos (Figura 21-A). Porém, observa-se que houve um número maior de
 556 mudas com sintomas internos em mudas inoculadas com os isolados de bananeira
 557 (FOC 36A), maracujá (FOP 005), mamona (CMM 800), tomate (CMM 4115),
 558 algodão (CMM 1437), caupi (CMM 5), e apresentando sintomas internos em
 559 proporções maiores que os isolados de alface (CMM 3576) e cana-de-açúcar (SAC
 560 139B) (Figura 21-A).

561 Para os isolados inoculados por substrato infestado (MAFI), avaliando os
 562 sintomas externos e internos, não houve diferença estatística significativa. Porém,
 563 os melhores resultados foram os tratamentos com isolados de banana, cana-de-
 564 açúcar, tomate e algodão que apresentaram 80,55%, 77,77%, 72,22% e 69,44%
 565 de incidência, respectivamente (Figura 21-B).

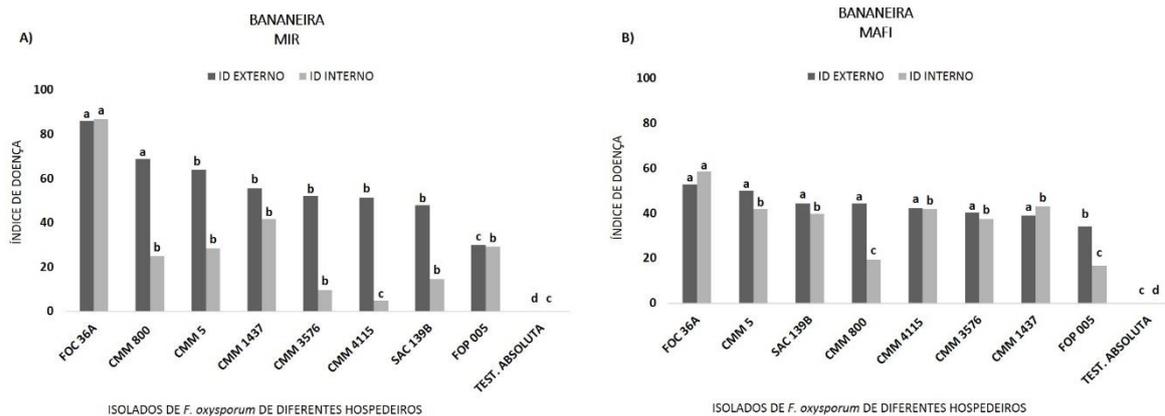


566 **Figura 21** - Relação entre a incidência externa e interna em mudas de bananeira
 567 inoculadas por Imersão de Raízes – MIR (A) e por Areia-Fubá infestado – MAFI (B)
 568 e os isolados de *F. oxysporum* oriundos de diferentes hospedeiros. Média seguidas
 569 de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ($p > 0,05$).

570 **Índice de doença (ID) em bananeira**

571 A severidade final avaliada na bananeira, ocorreu em diferentes níveis. As
572 plantas inoculadas por MIR com os isolados de bananeira FOC 36A, de mamona
573 (CMM 800) e feijão-caupi (CMM 5) apresentaram incidência de sintomas externos
574 >60% (Figura 22-A). Internamente, apenas a testemunha relativa apresentou uma
575 severidade da doença >60%, o restante ficou abaixo dos 50%, apresentando-se
576 nesse caso, como o melhor tratamento (Figura 22-A).

577 Quanto a expressão dos sintomas externos avaliada por MAFI, os isolados,
578 FOC 36A e CMM 5, foram os que causaram as maiores expressões de sintomas,
579 alcançando respectivamente, 52,8% e 50%, mas não diferiram estatisticamente dos
580 demais tratamentos (Figura 22-B). Internamente, o tratamento com a testemunha
581 relativa (FOC 36A) se destacou com o maior ID, estatisticamente diferindo dos
582 demais isolados (Figura 22-B). Apesar do bom resultado não foram considerados
583 como patogênico, ficando abaixo dos 60%.



584 **Figura 22** – Relação entre o índice externo e interno da doença (ID) e os diferentes
 585 isolados de *F.oxysporum* inoculados na bananeira por Imersão de raízes –MIR (A)
 586 e por Areia-Fubá infestado – MAFI (B). Médias seguidas de mesma letra não
 587 diferem entre si pelo teste Scott-Knott ($p>0,05$).

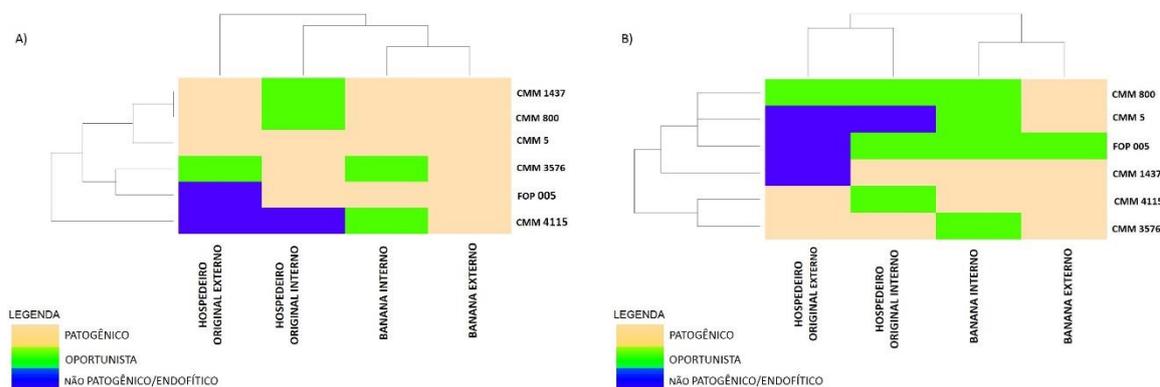
588 **Classificação da incidência em classes da doença causada por *F. oxysporum***
 589 **de diferentes hospedeiros em bananeira**

590 O resultado para os isolados provenientes de diferentes hospedeiros,
 591 quando inoculados na bananeira, foram agrupados utilizando uma escala de 0 a 2
 592 de acordo com o grau de incidência: não patogênico (0= 0-20%), oportunista (1=
 593 20-60%) e patogênico (2= >60%) mostrou que houve uma semelhança dos valores
 594 de incidência no hospedeiro original e na bananeira em alguns tratamentos.

595 O agrupamento hierárquico foi baseado numa matriz de similaridade da
 596 diferença da expressão de patogenicidade dos isolados, permitindo uma visão geral
 597 de severidade causada por *F. oxysporum* em bananeira (Figura 23). Os dados
 598 representam as comparações por patogenicidade das diferentes *formae speciales*
 599 de *F. oxysporum* em seus hospedeiros originais e na bananeira. As cores estão

600 associadas a patogenicidade: quanto mais claro (bege), mais patogênico foi o
601 comportamento do isolado.

602 No tratamento por imersão de raízes (MIR), a avaliação de expressão
603 externa de sintomas, mostra que todos isolados foram considerados patogênicos a
604 bananeira, porém, com referência a expressão de sintomas internos, apenas os
605 isolados de feijão-caupi, mamona, maracujá e algodão se comportaram como
606 patogênicos à bananeira (Figura 23-A). O comportamento do patógeno no
607 hospedeiro original, só foi como esperado no tratamento com o isolado de feijão-
608 caupi. Avaliando a segunda inoculação, isto é, por MAFI, os isolados de algodão
609 (CMM 1437) e tomate (CMM 4115), foram patogênicos à bananeira se comportando
610 como a testemunha relativa (Figura 23-B).



611 **Figura 23** - Agrupamento hierárquico de similaridade de sintomas externos e
612 internos entre diferentes isolados de *F. oxysporum* inoculados por Imersão de
613 Raízes - MIR (A) e Areia-Fubá infestado - MAFI (B), na bananeira e no hospedeiro
614 original.

615 **Reisolamento e confirmação do agente etiológico pela caracterização**
616 **morfológica dos reisolados.**

617 Os resultados para os reisolamento revelam que foi possível reisolar em
618 torno de 60% dos isolados inoculados, confirmando a morte das plantas por
619 fusariose (Apêndice A). Sendo realizado a partir deste reisolamento, o depósito dos
620 reisolados na micoteca do Laboratório de Fitopatologia da unidade da Embrapa
621 pelo método Castellani de conservação, para estudos posteriores.

622 Quanto à caracterização morfológica, de um modo geral esses isolados
623 apresentaram micélio aéreo não muito denso, com a coloração na superfície
624 superior da colônia variando entre branco e rosáceo e na superfície inferior variando
625 entre rosáceo, alaranjado e violeta (Apêndice B). A média de crescimento variou
626 entre 3,3 e 4,6 cm. A morfologia de macro e micro conídios também variou entre os
627 isolados avaliados, sendo o microconídio muito mais profuso que o macroconidio,
628 apresentando comprimento entre 6,3 e 8,1 μ m e largura de 1,63 a 2,17, formato
629 oval, ligeiramente curvado e sem septos, produzidos em monofiálides curtas. Já os
630 macroconídios, exibiram formato fusiforme, levemente curvado, apresentando de
631 três a cinco septos medindo de 13,7 a 36,9 μ m de comprimento e de 3,04 a 4,38
632 de largura (Apêndice C).

633 Após dez dias de incubação em meio SNA, foi notada a presença de muitos
634 clamidósporos de forma globosa, formados nas extremidades das hifas e também
635 intercalar, não foi observado a formação de esporodóquios, devido a colônia ser
636 muito jovem (Apêndice C).

637 **DISCUSSÃO**

638 Os resultados com o reisolamento e a caracterização morfológicas como
639 tamanho e coloração da colônia, presença e tamanho de macro e micro conídios
640 com fiálides curtas e formato “pino de boliche” estão de acordo com as faixas
641 descritas por Sutton, (1980) e Leslie & Summerel, (2006). Sendo possível dizer,
642 que todos os postulados de Koch foram fechados e confirmado o patógeno como
643 *F. oxysporum*.

644 A sintomatologia, principalmente a externa, foi bem característica da doença
645 em questão na maioria das culturas inoculadas. Apesar do número pequeno de
646 plantas mortas, o patógeno conseguiu colonizar os tecidos das plantas inoculadas
647 e revelar os sintomas de necrose no interior dos vasos, completando os postulados
648 de Koch. Porém, o maracujá inoculado por imersão de raízes não mostrou sintomas
649 necróticos, então para esse patossistema, apenas os sintomas externos não foram
650 um bom indicador na avaliação de incidência da doença, o que poderia subestimar
651 a patogenicidade dos isolados testados.

652 Contudo, esse resultado do experimento com o maracujá inoculado por
653 imersão de raízes, em relação aos sintomas externos, comparando com aquelas
654 inoculadas por areia-fubá infestado, tendem ser bem caraterísticos da doença, pois,
655 segundo Agrios (2005), antes de murcharem, partes da plantas perdem sua
656 turgescência, a coloração das folhas passa de um verde mais escuro para um verde
657 mais claro, por fim amarelam, escurecem e morrem, isto pode ter ocorrido no
658 experimento pela ação de toxinas produzidas pelo fungo com ácido fusárico e
659 enniatin que aumentam sua virulência e indisponibilizam os minerais para as

660 plantas (CHAKRABARTI & GHOSAL, 1989; BACON et al, 1996; AGRIOS, 2005).
661 Já que a entrada do fungo na planta foi facilitada pelo método de inoculação, a
662 absorção dessa toxina também ocorreu de forma mais instantânea, provocando os
663 sintomas externos mais intensamente, que o segundo método.

664 O maracujazeiro também possui como propriedade uma alta variabilidade
665 genética, por causa da fecundação cruzada, podendo apresentar indivíduos com
666 diferentes níveis de susceptibilidade a patógenos (BRUCKNER & PIKANÇO, 2001;
667 FISCHER et al., 2005).

668 O fato dos isolados de FOC não ter causado sintoma em tomate pelo método
669 de inoculação por imersão de raízes, pode ser explicado pelas estratégias de
670 defesa que as plantas possuem, lançando mão de barreiras estruturais que
671 impedem que o patógeno se beneficie do hospedeiro ou uma defesa química que
672 venha interferir no metabolismo do patógeno (HAMMOND-KOSAC & JONES,
673 1996). Uma outra explicação pode ser relatada pelo fato da cultivar utilizada no
674 teste de patogenicidade, ser moderadamente resistente, o que dificultaria o
675 progresso da doença na planta. O método areia-fubá não é uma metodologia
676 utilizada em trabalhos com tomate, em que a eficiência de inoculação pode ser
677 maior, já que existem relatos anteriores muito utilizados com *Fusarium* (HERVAS
678 et al, 1998; NIJETI et al, 2001; SMITH et al, 2008). Sendo uma metodologia
679 adaptada para FOC.

680 O resultado de não ter havido sintomas pelo método de imersão de raízes
681 em caupi, deve-se ao fato de que a cultura é de ciclo curto sendo necessário um
682 período maior que 60 dias para que o fungo consiga se estabelecer na planta e
683 causar sintomas externos (SILVA et al, 2011).

684 Os resultados do presente estudo, realizando a inoculação cruzada entre
685 FOC e os diferentes hospedeiros, sugerem que a *formae specialis cubense* de *F.*
686 *oxysporum* pode causar sintomas de fusariose em hospedeiros de outras espécies.
687 Resultados similares foram encontrados por Oliveira & Costa (2002), quando por
688 inoculação cruzada constaram que todos os isolados estudados de *F. solani* f. sp.
689 *glycines* foram patogênicos à soja e que *F. solani* f. sp. *faseoly* também causou
690 sintoma em soja, além do feijão.

691 Estudo semelhante ao presente trabalho, realizado por Rodrigues &
692 Menezes (2006), em que utilizou sementes de caupi inoculadas com várias
693 espécies de *Fusarium*, apenas o tratamento com a testemunha relativa mostrou
694 sintoma. Resultado diferente que mostra a necessidade de mais estudos para
695 investigação, já que os isolados de FOC estudados neste trabalho, mostraram ser
696 capazes de causar sintomas em outros hospedeiros.

697 Em relação similaridade dos isolados de outras culturas com FOC, alguns
698 mostraram sim ter uma compatibilidade, o isolado FOC 39B que agrupou bem mais
699 próximo a *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* e quando inoculado no algodão pelo
700 método areia-fubá infestado mostrou sintomas internos em mais de 60% das mudas
701 inoculadas. FOC 122B e FOC 41A, que agrupou próximo de *F. oxysporum* f sp.
702 *passiflorae*, quando inoculado por imersão de raízes no maracujá, apresentou
703 incidência em 80% das mudas inoculadas. Tal informação pode ser usada para
704 detectar novos grupos de patógenos potenciais ou linhagens de organismos
705 patogênicos numa área, para estudar a epidemiologia das doenças que eles
706 causam, e para avaliar a eficácia de uma estratégia de controle (FOURIE et al.,
707 2011).

708 O caso de ser utilizados dois métodos de inoculação, MIR e MAFI, seria para
709 testar uma metodologia mais drástica mas muito eficiente que seria a MIR e,
710 verificar se um método que simulasse as condições de solo como o MAFI fosse
711 também eficiente, sendo uma metodologia comprovada para seleção de genótipos
712 resistentes (SMITH et al, 2008; DITA et al, 2011; RIBEIRO et al, 2011).

713 Com os resultados mostram, o patógeno conseguiria demonstrar sua
714 inespecificidade em uma área com solo naturalmente infestado por *F. oxysporum*.
715 Porém, a metodologia por imersão de raízes em suspensão de conídios, foi mais
716 rápida para mostrar os sintomas na maioria das espécies, podendo ser mais
717 indicada para uma resposta mais precoce.

718 Apesar de ter ocorrido uma incidência de sintomas externos muito alta, todos
719 os isolados conseguiram causar sintomas internos em bananeira. A agressividade
720 foi menor do que no hospedeiro original mas com o tempo, em uma área infestada
721 esses isolados incidindo em bananeira, mais tarde podem ser selecionados em
722 isolados mais agressivos. Em uma área com cultivos sucessivos com bananeira
723 antes cultivada por tomate, por exemplo, com o tempo pode selecionar, dentro
724 desses isolados de tomate, um agressivo em bananeira. Então isso coloca em
725 dúvida, se há realmente a *formae speciales*, se plantas sucessivas numa mesma
726 área não selecionam *F. oxysporum*, independentemente de sua especificidade.

727 Os resultados com as demais culturas inoculadas com substrato infestado
728 estão de acordo com relatos anteriores (SILVA et. al, 2011) as mudas não
729 apresentaram sintoma de murcha, porém, internamente no presente estudo foi
730 nítido o sintoma de descoloração vascular corroborando a presença do patógeno

731 nos vasos. O esclarecimento para isso, é que haveria necessidade de um período
732 maior para exibir o sintoma externo.

733 Ao fazer os agrupamentos, onde a maioria ficaram como não patogênicos
734 (ou endofítico) e oportunistas, pois existem algumas estirpes não patogênicas de
735 FOC que são capazes de colonizar a raízes de bananeira mas não resultam em
736 murcha (SUTHERLAND et al., 2013) ou pode ter sido não patogênico pela
737 incapacidade da planta mostrar sintomas rápidos (GORDON & MARTIN, 1997),
738 isso seria perigoso pois, o fungo tem a habilidade bem documentada de persistir
739 sem recorrer a patogênese.

740 Essa relação poderia vir a ser modificada por alguma alteração no
741 hospedeiro ou no microrganismo, resultando no desenvolvimento de sintomas
742 (GORDON & MARTIN, 1997), vendo que em alguns resultados, não chegaram a
743 nível patogênico mas houve incidência em mais de 50% da população de plantas
744 no experimento.

745 Considerando a hipótese de que isolados de FOC são capazes de causar
746 sintomas em outros hospedeiros, ao ser inoculados apesar de conseguir causar
747 tais sintoma, nem todos tiveram tanto sucesso. Se observamos por esse lado, os
748 isolados FOC 119B, FOC 36A, FOC 41A e FOC 122B talvez não tenham um
749 potencial muito grande em servir de fonte de inóculo, em comparação com o isolado
750 FOC 39B, que causou uma intensidade de sintomas, não só em algodão como
751 também em mamona e feijão-caupi.

752 Porém, mesmo que os isolados não ficaram em grupo que os caracteriza
753 como patogênico, o fato deles terem conseguido colonizar as raízes das plantas,
754 soa como alerta. De acordo com Hennessy et al. (2005), a capacidade de um

755 patógeno habitante de solo para colonizar raízes de plantas, mesmo em níveis
756 baixos, poderá aumentar o seu potencial de sobrevivência mesmo na ausência de
757 plantas hospedeiras. Pois, segundo Everts & Himmelstein (2015), verificou que
758 isolados de *F. oxysporum* f. sp. *niveum*, agente causal da murcha em melão, podem
759 ser estimulados a germinar no solo nas proximidades de raízes de plantas não
760 hospedeiras e coloniza-las.

761 Devido a estreita associação dos fungos patogênicos e não-patogênicos
762 com raízes de plantas, é fácil pensar que as estirpes patogênicas originaram-se de
763 não patogênicas. Um forma alterada capaz de crescer além do córtex e no xilema
764 poderia rapidamente explorar essa capacidade, obtendo uma vantagem (GORDON
765 & MARTIN, 1997).

766 Em um trabalho realizado por Hennessy et al. (2005), estudando a raça 4 de
767 *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, constatou a presença do patógeno em plantas
768 daninhas em área de pousio na Austrália. Marois et al (1983), detectou que cepas
769 não patogênicas também eram capazes de colonizar resíduos de culturas em solos
770 fumigados anteriormente.

771 As chamadas estirpes “não patogênicas” de *F. oxysporum* na verdade, são
772 aquelas que não conseguiram induzir doença em um número limitado de espécies
773 de plantas a que tenham sido inoculadas (FRAVEL, et al, 2003).

774 Elucidando a respeito de *F. oxysporum* de diferentes hospedeiros, causar
775 sintomas do mal-do-Panamá em mudas de bananeira, houve isolados no estudo
776 em que a associação constante entre patógeno e hospedeiro, foi mais próxima da
777 bananeira ou maior do que com o próprio hospedeiro original, como no algodão,
778 tomate ou em outros não foram superior mas muito similar, diminuindo em termos

779 de intensidade como no método por areia-fubá infestado, que pode ser explicado
780 pelo fato que essa metodologia foi ajustada para isolados obtidos de bananeira.

781 Em um trabalho com isolados de *F. oxysporum* obtidos a partir de murchas
782 em plantas adultas de melão, melancia e pepino, foram estudados quanto a
783 patogenicidade e detectou no estudo, que isolados de pepino foram mais
784 patogênicos em melão do que em seu hospedeiro original (GERLAGH & BLOK,
785 1988).

786 O índice de doença, é importante para estabelecer o limite de tolerância para
787 a cultivar, no caso em que os valores do índice de doença em mudas inoculadas
788 com diferentes isolados de *F. oxysporum*, foram muito próximos aquelas inoculadas
789 com a testemunha relativa, isto leva a pensar na relação filogenética dos isolados
790 de *F. oxysporum* em estudo. É seguro pensar que esse isolados eram de bananeira
791 e ao longo do tempo se especializaram em outras culturas ou ele eram de outros
792 hospedeiros e se concentraram na bananeira.

793 Essa hipótese fica bem próxima da explicada por Koenig, et al. (1997), onde
794 ele descreve que genótipos diferentes de bananeiras são encontrados apenas na
795 África oriental, sendo possível que o patógeno tenha sido transferido do sudoeste
796 asiático, onde surgiram as bananeiras, sobre as bananeiras introduzidas na África
797 e, como resultado do isolamento geográfico ou por meio da adaptação às
798 bananeiras endêmicas, os isolados de FOC estudados por ele, tenham se
799 diferenciado dos seus descendentes asiáticos.

800 Foi observado com o trabalho uma falha na especificidade patogênica entre
801 os isolados muito citada na literatura, considerados patogênicos tanto nos
802 diferentes hospedeiros como na bananeira, induzindo a possibilidade desses

803 hospedeiros alternativos atuarem como fonte de inóculo para a bananeira. Em
804 função desse fato deve-se analisar cautelosamente as recomendações de plantio
805 consorciado com bananeira ou para a rotação de cultura como forma de controle,
806 devido a sobrevivência por longos períodos através dos clamidósporos.

807 Para Koenig, et al. (1997), a origem independente de patogenicidade para
808 bananeira em algumas linhagens infere implicações práticas para o trabalho sobre
809 essas doenças, pois muito esforço é dedicado para desenvolvimento de cultivares
810 de bananeira que são resistentes a murcha de Fusário, pois a especificidade pode
811 existir mas não para todas as *formae speciales*. Com isso o presente estudo vem
812 contribuir, observando que a informação do potencial para inoculação cruzada
813 desse isolados é importante para epidemiologia da doença e seu controle.

814 Há a necessidade de pesquisas mais aprofundadas e focadas em
815 comparações entre *formae speciales* estreitamente relacionadas e hospedeiros em
816 potencial de *F. oxysporum*, mais até do que o estudo com patógenos considerados
817 específicos à algumas culturas (FOURIE et al., 2011).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

818

819 - Isolados de diferentes *formae speciales* são capazes de infectar a bananeira,
820 causando os mesmos sintomas esperados para o mal-do-Panamá;

821 - Isolados de FOC são capazes de infectar diferentes espécies hospedeiras, além
822 da bananeira, e causar sintomas típicos de murcha de Fusário (murcha e necrose
823 vascular).

REFERÊNCIAS

824

825 Agrios GN (2005) Plant Pathology. 5 th Ed. Amsterdam. The Netherlands. Elsevier
826 Academic Press.

827 Aurore G, Parfait B, Fahrasmane, L. (2009) Bananas, raw materials for making
828 processed food products. Trends in Food Science & Technology 20:78-91.

829 Bacon CW, Porter JK, Norred WP, Leslie JF (1996) Production of Fusaric Acid by
830 *Fusarium* Species. Applied and environmental microbiology 62:4039–4043.

831 Bruckner CH, Picanço MC (2001) Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita,
832 agroindústria e mercado. Porto Alegre, Ed. Cinco continents 472.

833 Chakrabarti DK, Ghosal S (1989) The Disease Cycle of Mango Malformation
834 Induced by *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* and the Curative Effects of
835 Mangiferin-Metal Chelates. Phytopathology 125:238-246.

836 Costa SN, Bragança CAD, Ribeiro LR, Amorim EP, Oliveira SAS, Dita MA,
837 Laranjeira FF, Haddad F (2015) Genetic structure of *Fusarium oxysporum* f. sp.
838 *cubense* in different regions from Brazil. Plant Pathology 64:137–146.

839 Dita MA, Ribeiro LR, Amorim EP, Cordeiro ZJM, Silva SO (2011) Metodologias
840 para a caracterização de genótipos de bananeira quanto à resistência ao mal-do-
841 Panamá em casa de vegetação. Cruz das Almas: EMBRAPA/CNPMPF
842 Comunicado técnico, 150.

- 843 Dita MA, Waalwijk C, Buddenhagen IW, Souza Jr MT, Kema GHJ (2010) A
844 molecular diagnostic for tropical race 4 of the banana *Fusarium* wilt pathogen.
845 *Plant pathology* 59:348-357.
- 846 Everts KL, Himmelstein JC (2015) *Fusarium* wilt of watermelon: Towards
847 sustainable management of a re-emerging plant disease. *Crop Protection* 73:93-
848 99.
- 849 Fao (2015) Food and agriculture organization of the United Nations (fao).
850 Disponível em: www.fao.org.
- 851 Fischer IH, Lourenço AS, Martins MC, Kimati H, Amorim L (2005) Seleção de
852 plantas resistentes e de fungicidas para o controle da podridão do colo do
853 maracujazeiro causada por *Nectria haematococca*. *Fitopatologia Brasileira*
854 30:250-258.
- 855 Fraser-Smith S, Czişlowski E, Meldrum RA, Zander M, O'neill W, Balali GR, Aitken
856 EAB (2014) Sequence variation in the putative effector gene SIX8 facilitates
857 molecular differentiation of *Fusarium oxysporum f. sp. cubense*. *Plant Pathology*
858 63:1044–1052.
- 859 Fravel D, Olivain C, Alabouvette C (2003) *Fusarium oxysporum* and its biocontrol.
860 *New Phytologist* 157:493-502.

861 Fourie G, Steenkamp ET, Ploetz RC, Gordon TR, Viljoen A (2011) Current status
862 of the taxonomic position of *Fusarium oxysporum formae specialis cubense* within
863 the *Fusarium oxysporum* complex. *Infection, Genetics and Evolution* 11:533-542.

864 Gerlagh M, Blok WJ (1988) *Fusarium oxysporum f.sp. cucurbitacearum* n.f.
865 embracing all *formae speciales* of *F. oxysporum* attacking Cucurbitaceous crops.
866 *Plant Pathology* 94:17-31.

867 Ghag SB, Shekhawat UKS, Ganapathi TR (2015) *Fusarium* wilt of banana:
868 biology, epidemiology and management. *International Journal of Pest*
869 *Management* 1-15.

870 Gordon TR, Martyn RD (1997) The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*.
871 *Phytopathology* 35:111–28.

872 Hammond-Kosack K E, Jones JDG (1996) Resistance Gene-Dependent Plant
873 defense Responses. *The Plant Cell* 8:1773-1791.

874 Hennessy C, Walduck G, Daly A, Padovan A (2005) Weed hosts of *Fusarium*
875 *oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 in northern Australia. *Australasian Plant*
876 *Pathology* 34:115–117.

877 Hervás A, Landa B, Datnoff LE, Jimenez-Díaz RM (1998) Effects of Commercial
878 and Indigenous Microorganisms on *Fusarium* Wilt Development in Chickpea.
879 *Biological control* 13:166–176.

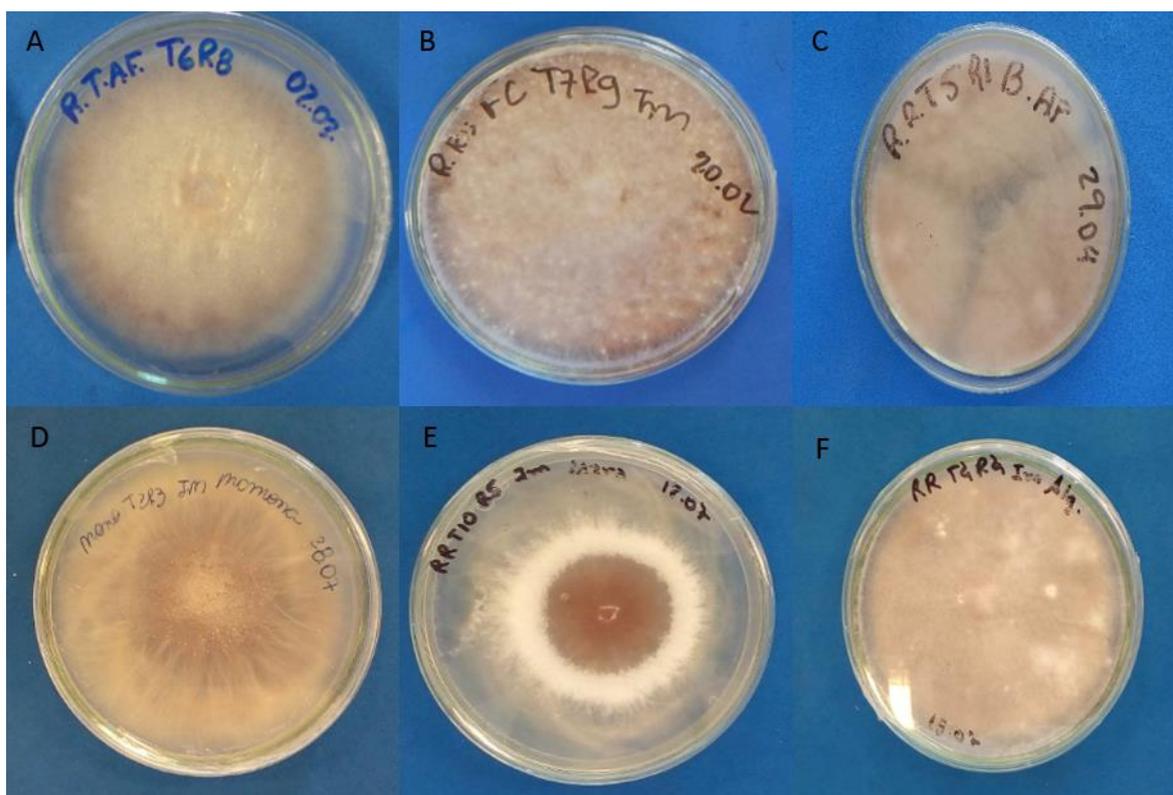
- 880 Koenig RL, Ploetz RC, Kistler HC (1997) *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*
881 consists of a small number of divergent and globally distributed clonal lineages.
882 *Phytopathology* 87:915-923.
- 883 Leslie JF, Summerell BA (2006) the *Fusarium* laboratory manual. Ames, Iowa
- 884 Marois JJ, Dunn MT, Papavizas GC (1983) Reinvasion of fumigated soil by
885 *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, causal agent of wilt of muskmelon, *Cucumis*
886 *melo* var. *reticulatus*. *Phytopathology* 73:680–84.
- 887 Martins AN, Furlaneto FPB (2008) Bananicultura: pesquisas voltadas para a
888 agricultura familiar. *Revista Tecnologia e Inovação Agropecuária* 78-86.
- 889 McKinney HH (1923) Influence of soil, temperature and moisture on infection of
890 wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. *Journal of Agricultural Research*.
891 *Washington* 26:195-217.
- 892 Nijeti VN, Johnson JE, Torto TA, Gray LE, Lightfoot DA (2001) Inoculum rate
893 influences selection for field resistance to soybean sudden death syndrome in the
894 greenhouse. *Crop Science* 41:1726-1731
- 895 Oliveira VC, Costa JLS (2002) Análise de restrição de DNA ribossomal
896 amplificado (ARDRA) pode diferenciar *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* de *F. solani*
897 f. sp. *glycines*. *Fitopatologia Brasileira* 27:631-634.
- 898 Pereira JCR, Pereira JR, Castro MEA, Gasparotto L (2005) Ocorrência do mal-do-
899 Panamá em Bananeira do Subgrupo Figo, em Piau, Minas Gerais. *Fitopatologia*
900 *Brasileira* 30:554.

- 901 Ploetz RC (2015) Management of Fusarium wilt of banana: A review with special
902 reference to tropical race 4. *Crop Protection*. 73:7-15.
- 903 Ribeiro LR, Amorim EP, Cordeiro Z M, Silva SO, Dita MA (2011) Discrimination of
904 banana genotypes for Fusarium wilt resistance in greenhouse. *Acta Horticulturae*
905 897:381-386.
- 906 Rodrigues AAC, Menezes M. (2006) Identification and pathogenic
907 characterization of endophytic *Fusarium* species from cowpea seeds. *Academia*
908 *Pernambucana de Ciência Agronômica* 3:203-215.
- 909 Silva AS, Oliveira EJ, Laranjeira FF, Jesus ON (2011) Seleção de metodologias
910 para inoculação da fusariose do maracujazeiro causada por *Fusarium oxysporum*
911 f. sp. *passiflorae*. Cruz das Almas: Embrapa/CNPMP Boletim de Pesquisa e
912 Desenvolvimento 51.
- 913 Smith, L.J., Smith, M.K., Tree, D., O'keefe, D, Galea, V.J (2008) Development of a
914 small-plant bioassay to assess banana grown from tissue culture for consistent
915 infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Australas. Plant Pathology*
916 37:171-179.
- 917 Sutherland R, Viljoen A, Myburg AA, Van Den Berg N (2013) Pathogenicity
918 associated genes in *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4. *South African*
919 *Journal of Science* 109:1-10.

- 920 SUTTON BC (1980) *The Coelomycetes*. Commonwealth Mycological Institute,
921 Kew, England.

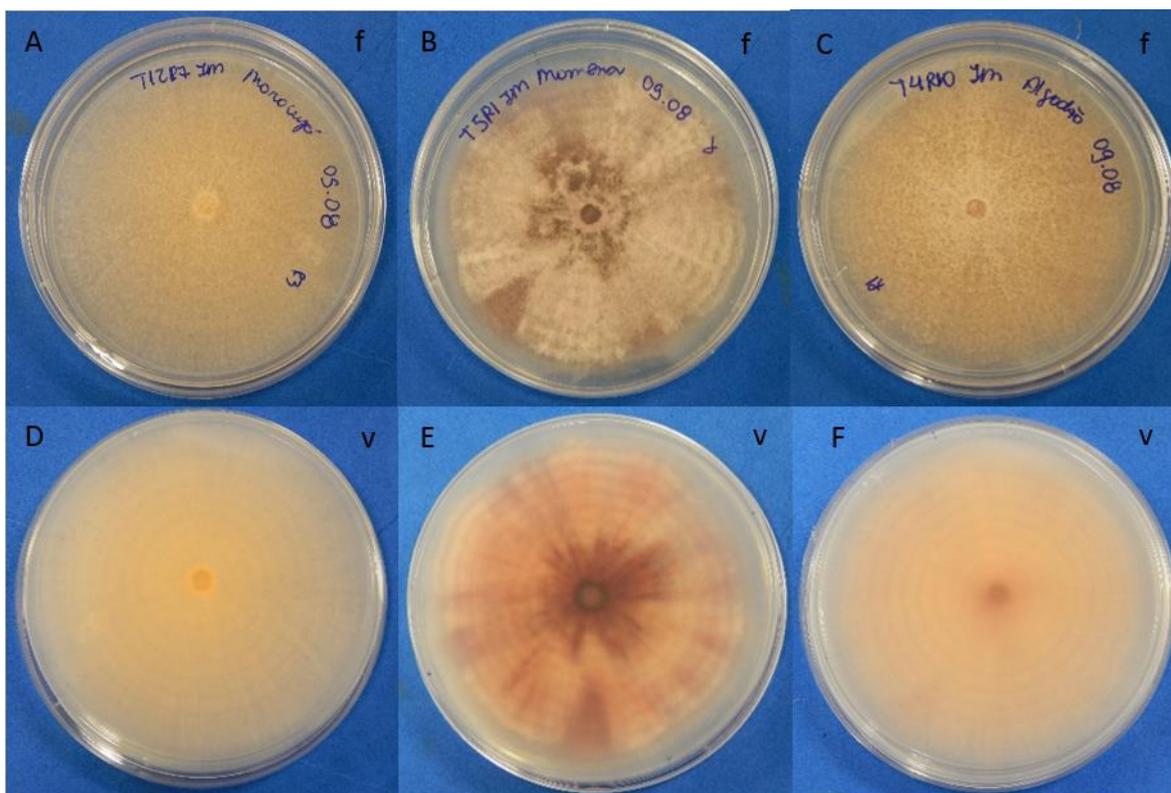
APÊNDICES

922 Apêndice A – Reisolamento do patógeno



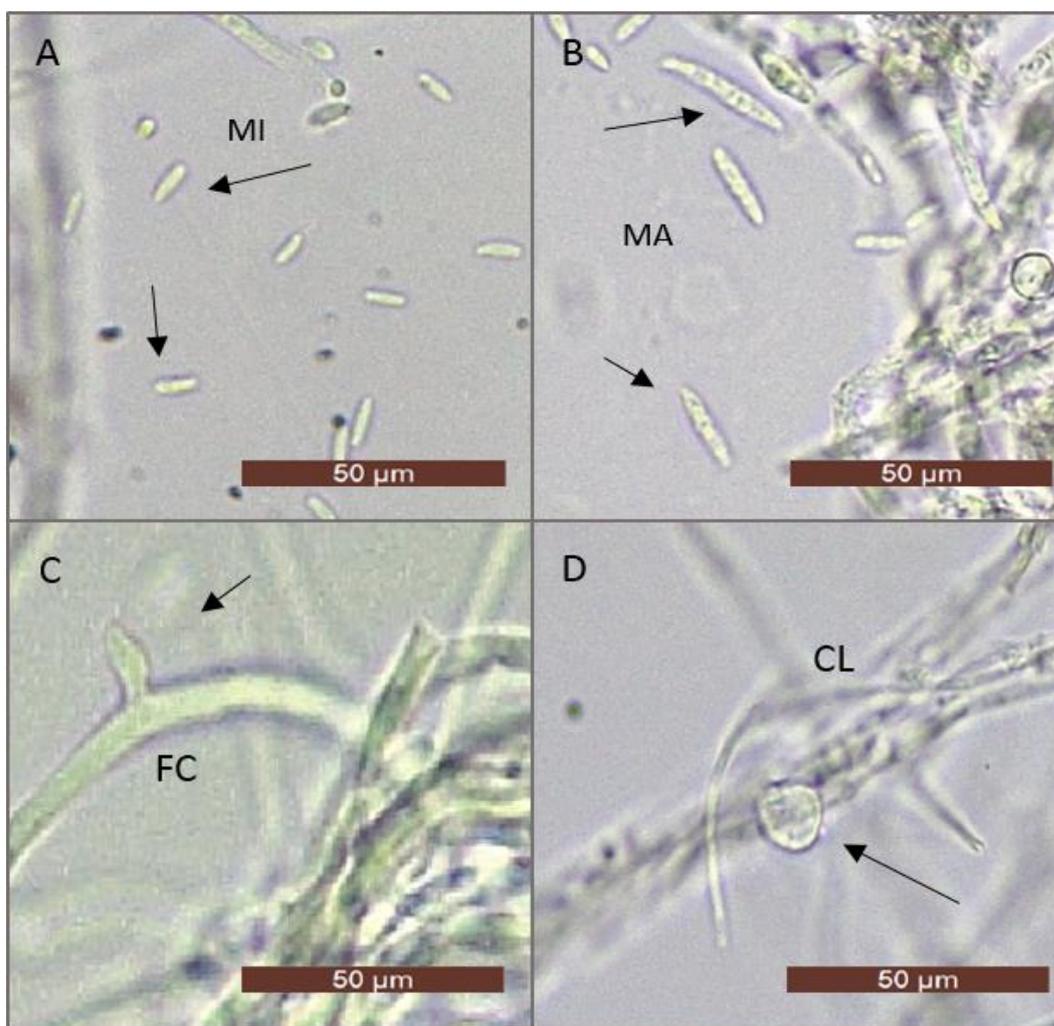
923 **Apêndice A** – Placas de reisolamento de FOC em tomate (A); feijão-caupi (B);
924 mamona (D); maracujá (E); algodão (F); alface e de FOP em bananeira (C).

925 Apêndice B – Caracterização morfológica



926 **Apêndice B** - Reisolados de *F. oxysporum* f. sp. cubense. FOC 36A em maracujá
927 (A e D); FOC 39B em mamona (B e E) e FOC 36B em algodão (C e F) em BDA
928 com 10 dias a 25°C com fotoperíodo de 12 horas. f= frente; v= verso.

929 Apêndice C – Caracterização micro morfológica



930 **Apêndice C** – MIC: Microconídio (A) e MAC: macroconídio (B); FC: Fíalide curta
931 (C); CL: Clamidósporo (D), de FOC reisolados de diferentes hospedeiros. Escala
932 50 µm.

ANEXOS

Anexo 1- Normas da revista Tropical Plant Pathology

1 Artigo completo

Os manuscritos devem ser preparados em espaço duplo, fonte 12 em todo o texto, incluindo as referências, apêndices, tabelas e legendas das figuras. A configuração da página deve ser A4, com margens de 2,5 cm, numeração de página e de linha consecutivas, a partir da página de rosto.

Os seguintes elementos devem começar em uma nova página e ser ordenados conforme listados abaixo:

a) A página de rosto deve conter: um título conciso e informativo; os nomes (primeiro e último nome completo) dos autores; a filiação institucional ou onde a pesquisa foi realizada, incluindo departamento, instituição, CEP, cidade, estado ou província e país (notar que a filiação deve ser aquela onde o autor estava vinculado quando o trabalho foi realizado - no caso de o autor ter se transferido para uma instituição diferente, isso pode ser indicado separadamente como "endereço atual"); filiações diferentes são indicadas com números sobrescritos; o nome do autor para correspondência com endereço de correio eletrônico. O autor para correspondência é a pessoa responsável por verificar as provas tipográficas, organizar o pagamento de ilustrações coloridas e outras funções relacionadas com o processamento do manuscrito.

b) O Abstract deve ser em parágrafo único que não exceda 200 palavras, e resume os principais resultados e conclusões do estudo. Ele não deve conter referências.

c) As Key words: até seis palavras-chave devem ser incluídas, e estas devem diferir de palavras mencionadas no título. Devem começar com os nomes científicos dos hospedeiros e patógenos envolvidos no estudo (ou os mais relevantes), em ordem alfabética e ser seguidas por outras palavras-chave, também em ordem alfabética.

d) O texto deve ser o mais sucinto possível e incluir os seguintes elementos:

Introduction: descrição do histórico que levou ao estudo e a hipótese que está sendo testada, caso isso se aplique.

Material and Methods: descrição detalhada dos passos seguidos pelos autores, permitindo ao leitor a repetição o trabalho se disposto a fazê-lo. Evitar, sempre que possível, apenas se referir a uma outra publicação para a descrição completa da metodologia. Métodos estatísticos deve ser explicado no final desta seção.

Results: duplicação de texto e tabelas devem ser evitados. Comentário sobre a significância dos resultados é apropriado, mas uma discussão mais ampla deve ser parte da seção específica.

Discussion: os resultados do estudo devem ser colocados no contexto de dados relevantes previamente publicados. Idéias apresentadas em outras publicações não devem ser incluídas unicamente para aumentar o tamanho do artigo. Alguns manuscritos podem exigir diferentes formatos, a fim de melhor atender ao seu conteúdo. Isso será avaliado caso a caso.

Citações no texto: artigos devem ser citados com os sobrenomes dos autores e a data de publicação; citações com dois autores deve incluir os dois nomes separados por "&"; em citações com três ou mais autores, listar apenas o nome do primeiro autor e utilizar "et al.". Lista de duas ou mais referências na mesma citação em ordem cronológica, separadas por ponto e vírgula. Quando dois ou mais trabalhos em uma citação foram publicados no mesmo ano, liste-os em ordem alfabética pelo sobrenome do primeiro autor. Para dois ou mais trabalhos do mesmo autor em uma citação, liste-os em ordem cronológica, com os anos separados por vírgulas. (Exemplo: Barreto et al., 2006a, 2006b, 2008). Apenas artigos publicados ou no prelo devem ser citados. No caso de "comunicação pessoal" ou "dados não publicados", todos os contribuintes devem ser listados por iniciais e sobrenome (et al. não deve ser usado).

Números: no texto, números abaixo de nove devem ser escritos por extenso, exceto como parte de uma data, uma fração ou decimal, uma porcentagem ou uma unidade de medida. Use algarismos arábicos para números maiores do que nove. Evite iniciar uma frase com um número, mas se isso for absolutamente necessário,

escreva o número por extenso. URLs para programas, dados ou outras fontes devem ser listados no texto, ou como uma nota de rodapé. URLs para citações de publicações em revistas eletrônicas devem aparecer na seção Referências.

e) **Acknowledgments** deve ser um parágrafo único que segue imediatamente a seção Discussão, e inclui referências a concessão de apoio financeiro ou qualquer contribuição técnica ou intelectual.

f) As **referências** devem ser ordenadas alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor. Referências com o mesmo primeiro autor devem ser ordenados da seguinte forma: primeiro, como único autor em ordem cronológica, em segundo lugar, com apenas um co-autor em ordem alfabética pelo segundo autor, e terceiro, referências com mais de dois co-autores, em ordem alfabética pelos segundos autores ou subsequente. Títulos de periódicos não devem ser abreviados.

Os autores devem evitar a citação de teses, anais de eventos ou relatórios técnicos, principalmente por razões de acessibilidade. Um máximo de três citações desses tipos serão permitidas.

Apenas artigos publicados ou no prelo devem ser incluídos nesta seção. Manuscritos submetidos para publicação mas ainda não aceitos não podem ser citados. Comunicações pessoais e dados não publicados devem ser citados no texto. "Comunicação pessoal" refere-se a indivíduos que não sejam os autores do manuscrito sendo submetido; "dados não publicados" refere-se a dados obtidos por um ou mais dos autores do manuscrito submetido. Os autores devem apresentar provas adequadas para trabalhos "no prelo" e "comunicações pessoais".

Formato de referências

Artigo	em	periódico:
Reis RF, Goes A, Timmer LW (2006) Effect of temperature, leaf wetness, and rainfall on the production of <i>Guignardia citricarpa</i> ascospores and on black spot severity on sweet orange. <i>Fitopatologia Brasileira</i> 31:29-34.		
Arnold AE, Medjía LC, Kyllö D, Rojas EI, Maynard Z, Robbins N, Herre EA (2003) Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. <i>Proceedings of the National Academy of Sciences, USA</i> 26:15649-15654.		

Capítulo **de** **livro:**
Campos VP, Villain L (2005) Nematode parasites of coffee and cocoa. In: Luc M, Sikora RA, Bridge J (Eds.) Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. Wallingford, UK. CAB International. pp. 529-580.

Livro:
Agrios GN (2005) Plant Pathology. 5th Ed. Amsterdam, The Netherlands. Elsevier Academic Press.

Livro **editado:**
Kimati H, Amorim L, Rezende JAM, Bergamin Filho A, Camargo LEA (Eds.) (2005) Manual de Fitopatologia. Vol. 2. Doenças das Plantas Cultivadas. 4ª. Ed. São Paulo, SP. Ceres.

Documento **eletrônico:**
CONAB. Cana-de-açúcar, safra 2006 -2007. Available at: www.conab.gov.br/conabweb/download/BoletimCana-Novembro2006-07.pdf. Accessed on October 12, 2008.

Dissertação/Tese:
(Os autores devem evitar a citação de teses, anais de eventos ou relatórios técnicos, principalmente por razões de acessibilidade. Um máximo de três citações desses tipos serão permitidas.)

Zerbini FM (1996) Aspects of the epidemiology of lettuce mosaic in the Salinas Valley of California, and the production of LMV-resistant transgenic lettuce plants. PhD Thesis, University of California. Davis, CA, USA.

Anais **de** **eventos:**
Igarashi S, Utiamada CM, Igarashi LC, Kazuma AH, Lopes RS (1986) Ocorrência de *Pyricularia* sp. em trigo no estado do Paraná. In: 14ª Reunião Nacional de Pesquisa de Trigo, Resumos... Londrina, PR. IAPAR. p. 57.

Relatórios **técnicos:**
Fawcett HS (1911) Scaly bark or nail head rust of citrus. Florida Agriculture Experiment Station Bulletin 106.

g) **Tabelas:** tabelas devem ser inseridas após a seção Referências. Cada tabela deve começar em uma nova página. Um título conciso deve ser fornecido acima da tabela. As tabelas devem ser numeradas consecutivamente em algarismos arábicos. Cada coluna deve ter um título em letras minúsculas. Notas de rodapé devem ser digitadas diretamente abaixo da tabela, indicadas preferencialmente em números sobrescritos; letras minúsculas podem ser usadas quando os títulos das colunas contêm números.

h) As **figuras** devem ser numeradas consecutivamente em algarismos arábicos e devem ser dimensionadas de acordo com as colunas da revista. As legendas devem ser inseridas no texto principal, após as tabelas. Insira chaves e barras de escala, quando aplicável, diretamente na figura. Figuras digitalizadas não devem ser submetidas. As imagens devem estar em formato TIFF ou JPEG e ser fornecidas como arquivos separados. Figuras em formato Word não podem ser publicadas. Reprodução de qualidade exigirá tons de cinza e cor em resolução mínima de 300 dpi. Os autores devem apresentar bitmaps em resolução entre 600 e 1200 dpi. Estas resoluções referem-se ao tamanho de saída do arquivo; caso seja previsto que as imagens serão ampliadas ou reduzidas, as resoluções devem ser ajustados em conformidade. Cuidados especiais devem ser tomados com a qualidade das imagens. O procedimento normalmente utilizado para tirar fotos com uma câmara digital colocada acima de um microscópio ocular normalmente produz imagens de baixa qualidade com sombreado periférico, que são inadequadas para publicação. É altamente recomendável indicar detalhes de interesse em imagens com setas acompanhadas de explicações do que foi indicado na legenda.

i) A **nomenclatura** de nomes científicos deve estar em conformidade com as normas internacionais vigentes para cada classe de organismos. Os nomes científicos devem aparecer na íntegra e seguido pela autoridade na primeira vez em que aparecem no corpo do texto (mas sem autoridade no título, resumo, palavras-chave, tabelas ou legendas), e abreviado e sem autoridades daí em diante. Sempre que um nome científico aparecer no início de um período, deve ser escrito na íntegra.
Plantas: The International Plant Names Index, <<http://www.ipni.org/index.html>>
Fungos: Index Fungorum, <<http://www.speciesfungorum.org/Names/Names.asp>>

Bactérias: [<http://www.isppweb.org/names_bacterial.asp>](http://www.isppweb.org/names_bacterial.asp)

Nematoides: [<http://www.iczn.org/iczn/index.jsp>](http://www.iczn.org/iczn/index.jsp)

Vírus: conforme o Código Internacional de Classificação e Nomenclatura, publicado no 9o Relatório do Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus - ICTV (2012).

j) **Culturas e outros materiais de referência:** fonte e depósito de culturas devem ser indicados. Culturas e amostras-tipo que documentam a investigação, bem como sequências de nucleotídeos, devem ser depositado em bancos de dados certificados ou reconhecidos de instituições internacionais, e os números de adesão e local de depósito indicado no texto ou como uma nota de rodapé na página de rosto.

k) **Acesso aos dados:** deve ser feita referência à disponibilidade de dados detalhados e materiais utilizados para estudos relacionados.

l) **Abreviaturas e unidades:** unidades SI devem ser utilizadas, tais como mg, g, m, mm, L, mL, L, h, min, s, mol, kg /ha. Se uma abreviatura diferente do padrão for utilizada, ela deve ser definida na sua totalidade quando citada no texto pela primeira vez.

m) **Produtos fitossanitários:** somente nomes técnicos ou nomes de princípios ativos devem ser usados. Não é recomendável que os autores mencionem nomes comerciais de produtos ou das empresas que os produzem, de modo a não sugerir a utilização. Fórmulas químicas devem ser escritas em uma linha e seguir nomenclatura padrão.

2 Comunicação

Apresentam observações simples ou resultados que não justifiquem um artigo completo. Comunicações preliminares de trabalhos em andamento não se enquadram nesse formato. Primeiros relatos de doenças de plantas devem ser apresentados como Comunicação. Estes manuscritos devem conter ilustrações do patógeno, indicação de depósito de material de referência de acesso público, incluindo sequências de DNA (quando disponíveis ou em casos em que são indispensáveis), e documentação exigida pela legislação específica, tal como, no

caso de registros do Brasil, obedecendo às regras estabelecidas pelo Ministério da Agricultura.

Comunicações devem conter 12 páginas ou menos, digitadas em formato A4, margens de 2,5 cm, em espaço duplo e fonte 12, incluindo referências, mas não tabelas e legendas. Devem incluir um abstract com não mais do que 200 palavras e nenhuma outra subdivisão. Todo o seu conteúdo deve estar em uma única seção (sem legendas como introdução, material e métodos, resultados e discussão). No máximo duas tabelas e duas figuras, ou qualquer combinação dos quatro itens, podem ser apresentados em uma comunicação. A página de rosto e o formato das referências são os mesmos de um artigo completo.

3 Carta ao Editor

Pode estar relacionada ou responder a artigos recentes de interesse para a área de Fitopatologia. Discussões sobre questões políticas, sociais e éticas de interesse para fitopatologistas também são bem-vindas neste formato. A Carta ao Editor não deve ter mais do que duas páginas digitadas em formato A4, margens de 2,5 cm, em espaço duplo e fonte 12, incluindo referências (se aplicável). Não devem incluir abstract ou qualquer subdivisão do texto. Caso seja absolutamente necessário, podem incluir uma figura ou tabela.

4 Artigo de revisão

Artigos de revisão são bem-vindos. Os autores devem contactar o editor antes da apresentação. Revisões são submetidas a revisão por pares da mesma forma que artigos completos. Revisões não devem ultrapassar 40 páginas digitadas em formato A4, margens de 2,5 cm, em espaço duplo e fonte 12, incluindo referências, tabelas e figuras. A página de rosto e o formato das referências são os mesmos de um artigo completo. Devem incluir um resumo com no máximo 200 palavras. O texto pode ser subdividido de acordo com o critério dos autores.

Provas

As provas tipográficas serão enviadas para o autor de correspondência. Notas adicionadas na prova requerem aprovação Editorial. As provas devem ser devolvidas no prazo de 72 horas.

Separatas

Separatas são gratuitas e estarão disponíveis como um arquivo pdf na página da TPP no portal SciELO.

Autoria

Autores que submetem manuscritos para Tropical Plant Pathology devem respeitar o valor da pesquisa de seus pares, não desvalorizando a co-autoria. Cada autor deve ter contribuído substancialmente para o desenho experimental, condução, análise ou interpretação dos resultados. Todos os autores devem aprovar a versão final do artigo a ser publicado, e devem assumir responsabilidade pública pela sua contribuição. O sistema de tramitação on line utilizado pela TPP disponibiliza ferramentas de detecção de plágio aos Editores, Editores de Seção e revisores. Detecção de plágio é motivo para a rejeição imediata de manuscritos.