



PATOGENICIDADE EM DOIS SUBSTRATOS DE ISOLADOS DE *FUSARIUM SPP.* ASSOCIADO COM A MURCHA VASCULAR DA BANANA

Diego Fabricio A. VALLADOLID.¹; Andrea E. C. VIERA.²; Javier J. ALVA.³

RESUMO

O Mal do Panamá, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* Tropical Race 4, é uma doença altamente destrutiva e sem método de controle eficaz. O objetivo da pesquisa foi comparar a patogenicidade de três isolados de *Fusarium spp.* associados ao MV em mudas de bananeira do subgrupo Cavendish em dois tipos de substratos. Mudas da bananeira do subgrupo Cavendish da variedade Williams *in vitro* foram inoculadas por imersão radicular por 30 minutos e mantidas em solução hidropônica Hoagland (SHH) e areia esterilizada (AE) por 21 dias em casa de vegetação. O progresso da severidade nas folhas e nos feixes vasculares foi monitorado diariamente. Em SHH os sintomas típicos da doença foram observados a partir do quinto dia e a partir do décimo dia em mudas mantidas em AE. Os patógenos inoculados foram reisolados dos feixes vasculares das plantas afetadas. Os isolados de *Fusarium spp.* associados ao MV em mudas de bananeira do subgrupo Cavendish foram patogênicos em ambos os tipos de substratos. Entretanto, no SHH foi evidenciado um desenvolvimento mais rápido dos sintomas em relação ao EA.

Palavras-chave:

Mal do Panamá, Cavendish, Sintomas, Diagnóstico.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, a produção mundial de musaceae enfrenta uma séria ameaça devido à rápida disseminação do fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* (Foc) Raça Tropical 4 (RT4), agente causal da doença denominada Mal do Panamá, também conhecida como murcha de Fusarium ou murcha vascular da bananeira (MV) (GARCÍA-BASTIDAS et al., 2020). Esse patógeno desafia as tentativas de controle, pois sua variabilidade genética permite que ele escape de fungicidas e agentes de biocontrole. O problema é agravado pela prática predominante da monocultura em larga escala, que incentiva o acúmulo de fontes de inóculo.

O Foc RT4 não apenas coloca em risco as exportações de banana, mas também ameaça a subsistência de milhões de pessoas que dependem de seu cultivo (LESCOT, 2017). Em particular, esta ameaça é mais grave para as cultivares suscetíveis de *Musa acuminata* do subgrupo Cavendish, que representam 45% da produção global (PLOETZ, 2015). Esses resultados apoiam a possível existência de Foc RT4 em território peruano, de acordo com o relato de Acuña et al. (2022).

Nesse sentido, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de comparar a patogenicidade

¹Tesista/Universidade Nacional de Piura. UNP – Campus Universitario s/n Urb. Miraflores, Piura-Perú. E-mail: 0202018019@alumnos.unp.edu.pe.

²Bacharel em engenharia agrônoma, Universidade Nacional de Piura. UNP – Campus Universitario s/n Urb. Miraflores, Piura-Perú. E-mail: 0202018002@alumnos.unp.edu.pe.

³Orientador, Universidade Nacional de Piura. UNP – Campus Universitario s/n Urb. Miraflores, Piura-Perú. E-mail: jjaviera@unp.edu.pe.

de três isolados de *Fusarium* spp. associados ao MV em mudas de bananeira do subgrupo Cavendish em dois tipos de substratos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Localização e isolamento

No laboratório de Fitopatologia do Departamento de Fitossanidade da Universidade Nacional de Piura (UNP), Peru, as amostras foram processadas. Essas amostras consistiram em segmentos de tecido vascular necrótico de bananeiras do subgrupo Cavendish. Os segmentos, medindo 0,5x0,5 mm e cortados com bisturi, foram lavados com água destilada esterilizada (ADE). Em seguida, foram desinfetados com hipoclorito de sódio a 3%, seguido de dois enxágues com ADE. Os segmentos foram colocados sobre papel absorvente e, posteriormente, semeados em placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-agar (BDA), ao qual foram adicionados cloranfenicol, ampicilina e tetraciclina (125 ppm). Estas placas de Petri foram incubadas a temperatura de 30°C por 7 dias.

Preparação da suspensão de conídios e inoculação

Nove isolados fúngicos foram obtidos, os quais foram transferidos para 5 placas de Petri contendo meio de cultura BDA e incubados a 30°C por 7 dias. Posteriormente, nas culturas replicadas, foram adicionados 20 ml de ADE. Com uma alça de Drigalsky, foi realizada uma raspagem suave no meio de cultivo, liberando assim o micélio, macroconídios e microconídios do patógeno. Essa mistura foi filtrada com o auxílio de um funil de vidro contendo algodão esterilizado. Em seguida, utilizando um espectrofotômetro 722s Spectrum Lab, ajustado para absorvância de 0,1 e comprimento de onda de 450 nm, obteve-se uma suspensão final com concentração de 10⁶ microconídios/mL.

As mudas cultivadas *in vitro* com 90 dias de idade, foram inoculadas seguindo o procedimento de Root Dipping descrito por Dita et al. (2010). As mudas foram lavadas duas vezes com água corrente. As raízes foram então imersas na suspensão de microconídios por 30 minutos.

Manutenção das mudas após a inoculação

Cada isolado de *Fusarium* spp. foi utilizado para inocular 6 mudas. O tratamento controle consistiu de mudas não inoculadas mantidas em ADE e SHH. As plantas inoculadas com os isolados Fom1, Fom2 e Fom3 foi colocado em solução hidropônica Hoagland (SHH), onde foram submersos em recipientes contendo 500 mL dessa solução. Simultaneamente, outro grupo de 18 mudas foi transplantado para vasos plásticos, os quais foram preenchidos com 4 Kg de areia esterilizada (AE). Todas as mudas foram aclimatadas e mantidas em temperaturas entre 28 e 30°C, com umidade relativa de 60 a 80% e fotoperíodo de 12 horas luz/escuro, em casa de vegetação.

Avaliação da doença

A severidade da doença foi avaliada de acordo com o aparecimento dos sintomas na folhagem e o avanço das estrias necróticas nos feixes vasculares. Para isso, foram feitos cortes longitudinais no

pseudocaule. A avaliação para ambos os substratos terminou aos 21 dias após a inoculação (DAI) e foi pontuada seguindo a seguinte escala *ad hoc*; G0: Muda sadia, G0,25: Clorose apical e marginal na primeira folha basal, G0,5: Clorose apical e marginal na segunda folha basal, G0,75: Clorose marginal e enrolamento necrótico apical da primeira folha basal, G1: Clorose e necrose em duas folhas basais, G2: Clorose e necrose em três folhas basais, G3: Clorose e necrose em quatro folhas basais, G4: Clorose e necrose em cinco folhas basais e G5: Plântula morta com necrose generalizada.

Os sintomas internos foram classificados de acordo com a seguinte escala *ad hoc*; G0: Muda sadia, sem estrias necróticas no sistema vascular, G1: Muda com manchas necróticas ao nível do rizoma, G2: Muda com estrias necróticas em 25% do comprimento do pseudocaule, G3: Muda com estrias necróticas em 50% do comprimento do pseudocaule e G4: Mudanças com necrose generalizada ao nível do rizoma e estrias necróticas em 75% do comprimento do pseudocaule. A severidade para ambos os parâmetros foi calculada com a fórmula: $S (\%) = (\sum n.v./V.N) \times 100$, onde *n* representa o número de folhas em cada grau, *v* é o grau de severidade ou infecção, *N* denota o número total de folhas e *V* é o número total de graus (TOWNSEND; HEUBERGEB, 1943). Os testes de patogenicidade dos isolados Fom-4, Fom-5, Fom-6, Fom-7, Fom-8 e Fom-9 foram realizados no substrato mais eficiente no desenvolvimento dos sintomas. O reisolamento dos patógenos foi realizado de feixes vasculares necróticos extraídos de mudas com sintomas de murcha vascular.

Análise estatística

Cada isolado em estudo representou um tratamento. Os cinco tratamentos foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições. A unidade experimental foi constituída por uma muda de bananeira. Os dados foram submetidos à análise de variância com o pacote estatístico STATGRAPHICS CENTURION ver. 19 e comparação de médias foi realizada pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os sintomas da doença foram progressivos, manifestando-se a partir do quinto DAI nas plantas mantidas em SHH, e a partir do décimo DAI nas plantas mantidas em AE. Os sintomas começaram nas folhas basais com clorose apical e marginal, seguido de necrose total e, finalmente, as folhas permaneceram suspensas no pseudocaule. As mudas mantidas em SHH apresentaram maior severidade foliar em relação às mudas em AE. Onde Fom-1: 70% (SHH) vs. 23,33% (AE), Fom-2: 86,7% vs. 63,33% e Fom-3: 76,6% vs. 55,83% Em SHH, os isolados Fom-4, Fom-5 e Fom-6 apresentaram percentuais de severidade de 55,8%, 49,2% e 59,2%, respectivamente. Enquanto Fom-7 (17,5%), Fom-8 (19,2%) e Fom-9 (15,8%) obtiveram os menores valores. Os tratamentos controle não apresentou sintomas típicos da doença, porém foi observada necrose nas duas primeiras folhas basais, o que foi atribuído a uma resposta adaptativa às novas condições de crescimento.

De acordo com a avaliação dos sintomas internos em relação ao avanço das estrias nos feixes vasculares, as mudas mantidas em SHH apresentaram valores maiores em relação às mudas mantidas em AE, onde; Fom-1: 83,3% (SHH) vs. 41,7% (AE), Fom-2: 87,5% vs. 66,7% e Fom-3: 83,3% vs. 54,2%. Os isolados Fom-4, Fom-5 e Fom-6 apresentaram percentuais de severidade de 75%, 50% e 79,2%, respectivamente. Enquanto Fom-7 (25%), Fom-8 (33,3%) e Fom-9 (25%) obtiveram os menores valores. Não foram observados sintomas internos nos tratamentos controle. É interessante notar que no substrato SHH houve maior velocidade no desenvolvimento dos sintomas em comparação ao substrato AE. Este fato explica a influência direta do ambiente na taxa de desenvolvimento da doença. A escolha do substrato parece ter tido um efeito significativo na dinâmica da patogenicidade do *Fusarium* spp., destacando a necessidade de compreender como diferentes fatores ambientais podem modular a interação entre o patógeno e as plântulas de bananeira. Investigações como a de Dita et al., (2010) mostraram que as plantas do subgrupo Cavendish cv. Grand Naine inoculado com isolados Foc RT4 apresentaram sintomas externos da doença aos 7 DAI.

5. CONCLUSÃO

Os isolados de *Fusarium* spp. associados ao MV em mudas de bananeira do subgrupo Cavendish foram patogênicos em ambos os tipos de substratos. Entretanto, no SHH foi evidenciado um desenvolvimento mais rápido dos sintomas em relação ao EA.

REFERÊNCIAS

- ACUÑA, R. et al. First report of *Fusarium oxysporum* F. Sp. *cubense* Tropical Race 4 causing fusarium wilt in Cavendish Bananas in Peru. **Plant Disease**, v. 106, n. 8, p. 2268, 1 ago. 2022.
- DITA, M. et al. A molecular diagnostic for tropical Race 4 of the banana fusarium wilt pathogen. **Plant Pathology**, v. 59, n. 2, p. 348-357, 1 abr. 2010.
- GARCÍA-BASTIDAS, F. A. et al. First report of Fusarium wilt tropical Race 4 in Cavendish bananas caused by *Fusarium odoratissimum* in Colombia. **Plant Disease**, v. 104, n. 3, p. 994, 1 mar. 2020.
- LESCOT, T. Banane. diversité génétique. **Fruitrop (Ed. Française)**, 1 jan. 2017.
- PLOETZ, R. C. Fusarium wilt of banana. **Phytopathology**, v. 105, n. 12, p. 1512-1521, 1 dez. 2015.
- TOWNSEND, G. R.; HEUBERGEB, J. W. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicidal experiments. **Plant disease reporter**, v. 27, n. 17, p. 340-343, 6 maio 1943.