

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO**

VARIABILIDADE DE HAPLÓTIPOS ISOLADOS DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* E IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA EM ACESSOS DE BANANEIRA

LINDINÉIA RIOS RIBEIRO

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

2016

VARIABILIDADE DE HAPLÓTIPOS ISOLADOS DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* E IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA EM ACESSOS DE BANANEIRA

Lindinéia Rios Ribeiro

Engenheira Agrônoma

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2009

Tese submetida ao Colegiado de Curso do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor em Ciências Agrárias, Área de Concentração: Fitotecnia.

Orientador: Prof. Dr. Sebastião de Oliveira e Silva

Coorientador: Dr. Fernando Haddad

Coorientador: Dr. Edson Perito Amorim

Coorientador: Dr. Carlos Augusto Dórea Bragança

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

2016

*“Feliz é o homem que acha sabedoria, e o homem que adquire o entendimento, pois melhor é o fruto que ela dá do que o ouro e a prata, e a sua renda do que o ouro. Mais precisa é do que as jóias, e nada do que possas desejar é comparável a ela
(Provérbios 13:15)”*

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO**

VARIABILIDADE DE HAPLÓTIPOS ISOLADOS DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* E IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA EM ACESSOS DE BANANEIRA

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DE

Lindinéia Rios Ribeiro

Realizada em 22 de Julho de 2016

Prof. Dr. Sebastião de Oliveira e Silva
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Examinador Interno (Orientador)

Profa. Dra. Ana Cristina Firmino Soares
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia / UFRB
Examinador Interno

Prof. Dr. José Luíz Bezerra
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia / UFRB
Examinador Interno

Prof. Dr. Aristóteles Pires de Matos
Embrapa Mandioca e Fruticultura
Examinador Externo

Prof. Dr. Zilton José Maciel Cordeiro
Embrapa Mandioca e Fruticultura
Examinador Externo

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese às pessoas mais importantes para mim, **meus pais**, Antonio da Silva Ribeiro e Eloina Rios Ribeiro, que renunciaram muito dos seus sonhos, para que eu pudesse realizar os meus...

Ao **meu esposo** Carlos Magno Marques pelo amor, companheirismo e incentivo.

AGRADECIMENTOS

São tantos e tão especiais...

Ao querido Deus, Pai Eterno, Generoso e Misericordioso que preparou esse dia...

Muito obrigada Senhor!

Ao meu esposo Magno, pelo companheirismo, pela firmeza nas horas mais difíceis, o apoio fundamental, sem palavras...

Aos meus queridos pais, Eloina e Antonio, pela ajuda, pelo apoio, pela orientação, por me ajudarem a concluir mais essa etapa da minha vida. Muito obrigada, amo muito vocês.

A toda minha família (irmãs, irmãos, sobrinhos) pelo apoio, torcida e confiança que sempre depositam em mim. Obrigada!

Agradeço ao professor Sebastião de Oliveira e Silva, a oportunidade de tê-lo como orientador de Iniciação Científica, Mestrado e Doutorado.

Ao Fernando Haddad, coorientador, pela orientação, apoio e ajuda.

Ao Edson Perito Amorim, coorientador, pela confiança e apoio.

Ao Carlos Augusto Dórea Bragança, coorientador, pela orientação, conhecimentos transmitidos para a realização desse trabalho.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia pelo apoio para o desenvolvimento da tese.

Aos Professores e funcionários da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, pelo apoio e infra-estrutura.

À Embrapa Mandioca e Fruticultura pelo apoio e investimento na minha qualificação profissional, na concessão de bolsa de estudos, infra-estrutura e financiamento do Projeto;

Aos funcionários de campo, em especial ao Sr. Bizunga, pela ajuda, atenção aos experimentos, muito obrigada!

Aos funcionários do Laboratório de Fitopatologia, Dr. Hermes Peixoto, Francisco Paulo e Leandro Rocha pela ajuda na realização dos trabalhos, sempre dispostos a colaborar no que fosse necessário para conclusão dos experimentos.

Aos funcionários do Laboratório de Virologia Molecular, Biologia Molecular, Cultura de Tecidos e Práticas Culturais pela ajuda na realização dos trabalhos.

Aos amigos e colegas nessa caminhada, Laryssa Andrade, João Lima, João Andrade e Ana Cristina.

À Igreja Batista Restaura Vida, por ter sido canal de bênçãos de Deus, nos momentos mais difíceis. Uma palavra de Deus nos faz continuar mesmo quando as circunstâncias falavam o contrário.

Ao Adailson sempre disposto na realização dos trabalhos, sempre com palavra de confiança e companheirismo. Que Deus continue te abençoando.

Aos amigos Ângelo, Talita, Maria, Ana Cristina, João Nilton, Mariana, Sandielle, Grazielle, Valdenia, Tamires, muito obrigada por possibilitarem essa experiência enriquecedora e gratificante, de maior importância para o meu crescimento como ser humano.

SUMÁRIO

RESUMO: Variabilidade de haplótipos isolados de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> e identificação de fontes de resistência em acessos de bananeira.....	9
ABSTRACT: Variability haplotype isolated from <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> and identification of resistance sources in banana access.....	12
REFERENCIAL TEORICO	15
ARTIGO 1	
TESTE DE AGRESSIVIDADE DE HAPLÓTIPOS DE <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>	26
ARTIGO 2	
FONTES DE RESISTÊNCIA A <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> EM GERMOPLASMA DE NANANEIRA.....	54
ARTIGO 3	
VIRULÊNCIA E AGRESSIVIDADE DE ISOLADOS DE <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> EM CULTIVAR GRANDE NAINA, MAÇÃ E BRS PLATINA.....	70
CONSIDERAÇÕES FINAIS	89

VARIABILIDADE DE HAPLÓTIPOS ISOLADOS DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* E IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA EM ACESSOS DE BANANEIRA

Autora: Lindinéia Rios Ribeiro

Orientador: Sebastião de Oliveira e Silva

RESUMO: A bananeira (*Musa* spp.) é uma planta cultivada em regiões tropicais e subtropicais, sendo a fruta *in natura* mais consumida no mundo. A produção brasileira é de sete milhões de toneladas, a área plantada estende-se desde a faixa litorânea até o planalto central. Apesar de ser elevada a produção de banana, é grande também a área de plantio infectada pelo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* (FOC). O fungo apresenta uma estrutura de resistência que permanece por décadas no solo, recomeçando os ciclos do patógeno e infectando mais variedades. Apesar de existir medidas de controle culturais, biológicas, químicas, com efeitos positivos, o manejo da doença se dá em grande parte com a utilização de cultivares resistentes, com medidas de exclusão e restrição de áreas contaminadas. As cultivares resistentes são desenvolvidas em Programas de Melhoramento Genético (PMG) mediante conhecimento prévio sobre a planta hospedeira (variabilidade genética) e sobre o patógeno (agressividade). Para a obtenção de uma cultivar resistente alguns passos devem ser seguidos, tais como: conhecer o tipo de resistência e a verificar a variabilidade genética do patógeno na região em que essa cultivar for lançada. Assim, torna-se importante constatar a variabilidade de uma população de FOC em variedades de bananeiras. O principal objetivo do trabalho foi estudar populações de FOC em bananeiras. O trabalho foi dividido em três capítulos. No primeiro capítulo, estudou-se a agressividade de uma população de haplótipos de FOC. Utilizou-se a inoculação por suspensão de conídios pelo método de imersão de raízes de bananeira das cultivares Maçã, Pacovan, Princesa e Prata Anã. Foram utilizadas escalas descritivas para avaliação dos sintomas externos e internos. O segundo capítulo teve como objetivo identificar fontes de resistência genética ao FOC de acessos do Banco de Germoplasma de Bananeira da Embrapa. Nesse trabalho utilizou-se o substrato sólido composto por areia lavada e fubá de milho. O substrato inoculado com o FOC foi depositado no solo em orifícios feito ao redor das mudas de bananeira. Foram analisados os sintomas externos e internos da doença em bananeira por meio de escalas descritivas. O terceiro capítulo teve como objetivo avaliar a virulência de isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* oriundos de bananeira Cavendish e Prata nas cultivares Grande Naine, Maçã e Platina. Foi utilizado o substrato inoculado com FOC. Os sintomas internos da doença foram avaliados aos 45 dias após a inoculação de FOC. Os resultados observados no Capítulo 1 classificaram os haplótipos de FOC 2011.21B, 2011.36A, 2011.34B, 2011.41B, 2011.120B, 2011.41A, 2011.06A, 2011.31B, 2011.140A, 2011.110A, 2011.97C, 2011.99B, 2011.127A, 2011.113A, 2011.140A, 2011.69A, 2011.111A, 2011.104A, 2011.115A, 2011.101B, 2011.12B, 2011.33A, 2011.61A, 2011.34A, 2011.107A como muito agressivos nas cultivares suscetíveis de bananeira analisadas, podendo ser utilizados em Programas de Melhoramento para testar bananeira quanto a resistência genética. Os isolados que apresentaram agressividade mediana foram 2011.23B, 2011.40B, 2011.42B, 2011.124A, 2011.100A, 2011.51A, CNPMF0801, 2011.78A, 2011.82B, 2011.32A, 2011.121A,

2011.27A, 2011.72B, 2011.94A, 2011.22A, 2011.55A, 2011.70B, 2011.119B, 2011.108B, 2011.44B, 2011.100B, 2011.74A, 2011.25C, 2011.46A, 2011.17B, 2011.37A, 2011.14A, 2011.142A, 2011.135A, 2011.77A, 2011.70A, 2011.120A, 2011.101A, 2011.112B, 2011.103C, 2011.139B, 2011.122B, 2011.52A, 2011.54B, 2011.40A, 2011.122A, 2011.23A, 2011.16A, 2011.50A, 2011.68A, 2011.79A, 2011.96A, 2011.91A, 2011.112A, 2011.21C. Já os isolados 2011.71A, 2011.14A, 2011.139A, 2011.139B, 2011.18B, 2011.73C, 2011.83A, 2011.116B, 2011.15B, 2011.30B, 2011.90A, 2011.52B, 2011.114A, 2011.07A, 2011.109A, 2011.148B, 2011.88C apresentaram baixa agressividade nas cultivares analisadas. No segundo capítulo, os acessos Birmanie, PA Songkla, Pirua, Imperial, Poyo, Ambei, Walebo e Kongo FRF 1286 quando inoculados com o FOC CNPMF0801 apresentaram-se como resistentes. O acesso M53 não apresentou nenhum sintoma da doença, confirmando a sua resistência genética, sendo, portanto, um genótipo utilizado como parental em cruzamentos para obtenção de cultivares resistentes à essa doença. No terceiro capítulo foi possível observar a formação de três grupos de virulência, os isolados 2014.218A, 2014.240B, 2014.300A, 2014.229A, 2014.307A, 2014.206A, 2014.173B, apresentaram-se como virulentos nas cultivares Grande Naine e Platina, enquanto os isolados 2014.262C, 2014.220A foram agressivos às três cultivares. Observou-se alta variabilidade genética na população de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*, assim como foi possível verificar fontes de resistência em acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Bananeira.

Palavras chave: *Musa* spp., resistência genética, bananeira, mal do Panamá.

HAPLOTYPE VARIABILITY OF *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* isolated AND RESISTANCE SOURCES IDENTIFICATION IN BANANA ACCESSES

Author: Lindinéia Rios Ribeiro

Advisor: Sebastião de Oliveira e Silva

ABSTRACT - Banana is cultivated both in Tropical and subtropical regions and it the most consumed fruit in natura in the world. The Brazilian production is around seven million ton a year and the crops area go from coastal zones to the central plateaus. Although the banana production is very high which has been infected by the *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* is also very big. This fungus presents a resistant structure that allows is to live on the soil for decades, restarting the cycles of the pathogen and infecting other varieties of banana. In spite of the cultural, biological and chemical control measures which has been developed, the disease management is mainly done by the use of resistance cultivar, with exclusion measures and restriction of the contaminated areas. The resistance cultivar have been developed in Genetical Enhancement programs by previous knowledge about the host (genetical variability) and about pathogen (aggressiveness). In order to obtain a resistance cultivar some steps have to be taken, such as: knowing the kind of resistance and also check the genetic variability of the pathogen in the region in which this cultivar has been thrown. Therefore, it is essential to find the variability of a FOC population in banana cultivar. The main purpose of this study was to study FOC populations em banana plants. The work has been divided in three chapters. In the first the aggressiveness of a haplotype of FOC populations has been studied. It has been used inoculation by conidia suspension by the immersion method for banana roots for the cultivar Maçã, Pacovan, Princesa e Prata Anã. Descriptive scales were used to evaluate the external and internal symptoms. The main purpose of the second chapter was to identify sources of genetic resistance to FOC from accesses from Banco de Germoplasma de Bananeira da Embrapa. In this work, a solid substrate composed by washed sand and corn meal. The inoculated substrate has been deposited on the soil in orifices made around the banana seedlings. The external and internal symptoms were analyzed by descriptive scales. The third chapter had the main objective virulence of FOC isolated coming from Cavendish and Prata cultivar in the cultivar Grande Naine, Maçã and Platina. The substrate inoculated with FOC has been used. The internal symptoms of the disease were evaluated 45 days after the FOC inoculation. The results in the chapter 1 classified the haplotypes FOC 2011.21B, 2011.36A, 2011.34B, 2011.41B, 2011.120B, 2011.41A, 2011.06A, 2011.31B, 2011.140A, 2011.110A, 2011.97C, 2011.99B, 2011.127A, 2011.113A, 2011.140A, 2011.69A, 2011.111A, 2011.104A, 2011.115A, 2011.101B, 2011.12B, 2011.33A, 2011.61A, 2011.34A, 2011.107A as very aggressive in the susceptible cultivar analyzed an can be used in Enhancement Programs to test genitival resistance were 2011.23B, 2011.40B, 2011.42B, 2011.124A, 2011.100A, 2011.51A, CNPMF0801, 2011.78A, 2011.82B, 2011.32A, 2011.121A, 2011.27A, 2011.72B, 2011.94A, 2011.22A, 2011.55A, 2011.70B, 2011.119B, 2011.108B, 2011.44B, 2011.100B, 2011.74A, 2011.25C, 2011.46A, 2011.17B, 2011.37A, 2011.14A, 2011.142A, 2011.135A, 2011.77A, 2011.70A, 2011.120A, 2011.101A, 2011.112B, 2011.103C, 2011.139B, 2011.122B, 2011.52A, 2011.54B, 2011.40A, 2011.122A, 2011.23A, 2011.16A, 2011.50A, 2011.68A, 2011.79A, 2011.96A, 2011.91A,

2011.112A, 2011.21C. The isolated 2011.71A, 2011.14A, 2011.139A, 2011.139B, 2011.18B, 2011.73C, 2011.83A, 2011.116B, 2011.15B, 2011.30B, 2011.90A, 2011.52B, 2011.114A, 2011.07A, 2011.109A, 2011.148B, 2011.88C presented medium aggressiveness in the studied cultivar. In the second chapter, the accesses Birmanie, PA Songkla, Pirua, Imperial, Poyo, Ambei, Walebo e Kongo FRF 1286 when inoculated with FOC CNPMF0801, present themselves as resistant the access M53 did not present any symptoms of the disease, confirming its genetical resistance, resulting, therefore, in a genotype used as parental in crossing to obtain resistant cultivar to the disease. In the third chapter it was possible to observe three virulence groups, the isolated 2014.218A, 2014.240B, 2014.300A, 2014.229A, 2014.307A, 2014.206A, 2014.173B, presented themselves as virulent in the cultivar Grande Naine and Platina, while the isolated 2014.262C, 2014.220A were aggressive to three cultivars. It could be observed a high genetical variability in the FOC population, and it was also possible to verify resistance sources in accesses from Banco de Germoplasma de Bananeira.

Key words: *Musa* spp., genetical resistance, banana, Panamá disease

REFERENCIAL TEÓRICO

A banana (*Musa spp.*) produzida em regiões tropicais e subtropicais, é a fruta mais consumida no mundo (SILVA et al., 2016). Entre os principais produtores mundiais de banana em 2012, está, em primeiro lugar, a Índia com 28% da produção (em torno de 106,5 milhões de toneladas). Em segundo lugar, classifica-se a China, que apresenta 10,1%, depois seguem as Filipinas com 8,6%, o Equador com 7%, o Brasil com 6,9% e a Indonésia com 5,8% da produção (FAOSTART, 2016). No Brasil os plantios de bananeiras ocorrem desde a faixa litorânea até o planalto central destacando-se os Estados de São Paulo, Bahia, Santa Catarina, Minas Gerais, Pernambuco, Ceará e Rio Grande do Norte (IBGE, 2016). Em 2013, o Brasil apresentou uma área colhida de 480,8 mil hectares e rendimento médio de 14,2 t ha⁻¹ (IBGE, 2016).

A bananicultura apresenta elevada importância socioeconômica, sendo cultivada por pequenos, médios e grandes produtores, o que faz da cultura uma excelente fonte de renda, além de gerar empregos diretos e indiretos (AURORE et al., 2009, SILVA et al., 2016). As cultivares mais utilizadas pelos produtores pertencem ao grupo Prata (Prata, Prata Anã e Pacovan) que atende a demanda dos consumidores nacionais, e, ao grupo Cavendish (Nanica, Nanicão e Grande Naine) muito utilizado nas exportações. Além dos subgrupos Prata e Cavendish, no Brasil destacam-se as variedades do tipo Terra (Terra, D'Angola, Terrinha) e a cultivar Maçã. Em menor quantidade são plantadas as bananeiras 'Ouro', 'Figo Cinza', 'Figo Vermelho', 'Caru Verde' e a 'Caru Roxa' (SILVA et al., 2016). Em cerca de 60 % dos plantios de bananeiras no Brasil prevalece as cultivares Prata, Prata Anã e Pacovan e 19,5% das áreas são usadas bananeiras 'Nanica', 'Nanicão' e 'Grande Naine'. Em torno de 13% dos plantios são cultivados com bananas tipo Terra e, áreas restantes são plantadas as cultivares Maçã, Mysore, Ouro, Thap Maeo, Figo e Caru (SILVA et al., 2016).

A bananeira é uma planta de fácil propagação, com bom rendimento por hectare, ciclo curto, cujos frutos são de fácil armazenamento e maturação acelerada (SILVA et al., 2016), que apresenta grandes retornos econômicos. No entanto,

enfermidades como mal do Panamá, uma doença vascular, vem causando sérios prejuízos em cultivares de bananeira de diferentes grupos genômicos.

O mal do Panamá também conhecido como Murcha do *Fusarium* ou Fusariose da bananeira é apontado como uma das mais destrutivas doenças de todos os tempos na bananicultura (PLOETZ 2006; PLOETZ 2015). Esta doença é conhecida também como Murcha de *Fusarium* ou Fusariose da bananeira. O mal do Panamá surgiu na região indo-malaia, afetando variedades suscetíveis. Acredita-se que o primeiro relato da doença tenha ocorrido por volta de 1874, no sudeste de Queensland, Austrália, atacando a cultivar Maçã. Os primeiros prejuízos relevantes foram relatados no Panamá, em 1904, sendo esta a provável razão do nome mal do Panamá (CORDEIRO E MATOS, 2003). Há relatos de que, num período de cinco décadas, mais de 40.000 ha de terras cultivadas com banana foram abandonados em toda a América Central e do Sul (SOLURI, 2008). Por esta razão, a doença foi considerada como a mais devastadora, que afetou as plantações comerciais de bananeira no hemisfério ocidental entre os anos 1900 e 1960 (SOLURI, 2008). No Brasil, a doença foi constatada pela primeira vez em 1930, no município de Piracicaba - SP, na cultivar Maçã e em três anos os bananais com essa cultivar foram praticamente destruídos (CORDEIRO E MATOS, 2003).

O mal do Panamá é causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC), um fungo de solo, que apresenta esporos especializados para a sua sobrevivência nesse ambiente. Além dessas estruturas de resistência, o FOC apresenta microconídios de forma elíptica com um ou nenhum septo, que apresentam a função principal de reprodução (COUTEAUDIER, 1990) e os macroconídios, estruturas que apresentam paredes finas com mais de quatro septos. O FOC tem fácil disseminação por meio de mudas, solo, implementos e ferramentas agrícolas contaminados e através da água de irrigação e drenagem nos solos (PLOETZ, 2015). Cordeiro e Matos (2000) relacionam a persistência do patógeno, com a hipótese de sobrevivência em estágio saprofítico, com a formação de heterocários com linhagens não patogênicas de *F. oxysporum*. O fungo apresenta variantes patogênicas denominadas raças fisiológicas com patogenicidade específica em relação a determinadas variedades. A ampla variabilidade genética apresentada por

esta espécie (SANTOS et al., 2011) é um dos principais problemas no desenvolvimento de variedades resistentes.

A infecção da bananeira ocorre inicialmente nas raízes secundárias seguindo em direção ao xilema, onde os microconídios destroem os tecidos condutores bloqueando o movimento da água no sistema vascular da planta. Ocorre a germinação dos esporos e a colonização do xilema pelo fungo. Nessa etapa é possível observar sintomas iniciais de rachadura no pseudocaule, amarelecimento que se inicia nas folhas velhas e progride para as folhas mais jovens, quebra das folhas junto ao pseudocaule o que dá a bananeira a aparência de um guarda-chuva fechado (CORDEIRO, 2005). O amarelecimento da lâmina foliar e a rachadura na base do pseudocaule são sintomas comuns, mas que podem não ocorrer (WARDLAW 1961; STOVER, 1972). Geralmente as folhas mais jovens são as últimas a exibir os sintomas da doença, enquanto as mais velhas são infectadas primeiro, mucham e morrem no início do processo infeccioso. Os sintomas nas folhas são explicados pela ação do ácido fusárico, fitotoxina produzida pelo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, que reduz a eficiência fotoquímica e a transpiração. Esse ácido provoca mudanças estruturais e bioquímicas (DONG et al., 2014) tais como estreitamento do limbo das folhas mais jovens, e engrossamento das nervuras secundárias. Nos cortes internos no pseudocaule é possível visualizar descoloração pardo-avermelhada (LI et al., 2011). A intensidade dessa descoloração muitas vezes é observada na área de vascularização junto ao córtex. Em estados muito avançados da doença podem ser observados sintomas de descoloração na nervura principal das folhas (CORDEIRO, 2005).

O patógeno apresenta alta variabilidade que é demonstrada pela existência de três raças de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* que são conhecidas em todo o mundo (FOURIE et al., 2011; PLOETZ et al., 2015). A raça 1, responsável por epidemias na cultivar Gros Michel em 1960, também afeta *Musa textilis* (abacá), 'Gros Maqueno' ou 'Maia Maoli Popoulu', (AAB), 'Silk' ou 'Maçã' (AAB), Seda (AAB) 'Pomme' ou 'Prata' (AAB), e 'Pisang Awak' (ABB), 'IC2' (híbrido melhorado AAAA). A raça 2 afeta bananas de cozinhar ABB, ou 'Bluggoe' (ABB) e híbridos melhorados AAAA. Existe ainda a raça 3 que foi encontrada infectando mudas de *Musa balbisiana* (BB) e 'Gros Michel' (AAA), porém, não está entre as raças que infectam,

bananeira e sim *Heliconia* spp. (FOURIE et al., 2011, PLOETZ et al., 2015). A raça 4 afeta várias cultivares, entre elas, as do subgrupo Cavendish (WAITE & STOVER, 1960; PLOETZ, 2000). Essa raça é dividida nas variantes Tropical (TR4) e Subtropical (ST4) (PLOETZ, 2006, PLOETZ, 2015). A TR4 afeta as bananeiras em condições tropicais e subtropicais, enquanto a ST4 só causa doença em Cavendish nas regiões subtropicais, principalmente quando as plantas estão expostas a estresse abiótico (BUDDENHAGEN, 2009). A raça TR4 tem causado sérios problemas em plantações comerciais de bananeiras na Austrália, China, Filipinas, Malásia, Sulaweski, Sumatra, Taiwan, Jordânia e Moçambique (STOVER E SIMMONDS 1987; GARCIA et al., 2013). Atualmente, *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (TR4) se espalhou para o sudoeste do Pacífico, Melanésia, e Mediterraneo (GARCIA et al., 2013; ORDONEZ et al., 2015) aumentando a distribuição de FOC em nível mundial. A Austrália, o país mais afetado pela TR4, apresentou recentemente 10.000 hectares de bananeiras comerciais devastadas por esta estirpe (BUTLER, 2013).

O FOC também apresenta atualmente 23 Grupos de Compatibilidade Vegetativa (GCV) e dentre estes 19 ocorre na Ásia (MOORE et al., 1993; PÉREZ, 2004). Os isolados de FOC que pertencem ao mesmo grupo de compatibilidade são considerados clones semelhantes, embora possam ter origens geográficas diferentes (LESLIE, 1990). A técnica de estudo de grupos de compatibilidade consiste no emparelhamento entre isolados com base na compatibilidade reprodutiva de diferentes cepas do fungo (PLOETZ, 1990). Por outro lado, em trabalhos de filogenia, O'Donnell et al., (1998) e Fourie et al., (2009) defendem que o *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* apresenta uma estrutura de população clonal e que as populações representam uma mistura de linhagens que surgiram de forma independente.

Estudos com esta espécie tem atestado a preocupação dos melhoristas e fitopatologistas em relação à possível entrada da TR4 no Brasil ou o aparecimento de novas formas variantes do patógeno. A TR4 é considerada uma praga quarentenária A1, de acordo com a instrução normativa nº 26 de setembro de 2015. Portanto, já existe o plano de contingência à TR4, que vem sendo desenvolvido com o propósito de impedir a disseminação dessa raça no Brasil, caso seja introduzida. A

elaboração de um plano de contingência ou contenção tem como objetivo dotar o país de conhecimentos sobre a doença, facilitar a detecção do patógeno, adotar medidas para conter ou confinar o patógeno e evitar a sua disseminação (DITA et al., 2015).

Os esforços no sentido de controlar o mal do Panamá por meio de produtos químicos ou práticas culturais não têm produzido os resultados esperados, sendo o uso de variedades resistentes o método mais recomendado para o controle da doença. No entanto, algumas medidas preventivas são recomendadas como, evitar as áreas com históricos de incidência do mal do Panamá, utilizar mudas comprovadamente sadias e livres de nematóides; corrigir o pH do solo, de forma a mantê-lo próximo a neutralidade, optar por solo com teores elevados de matéria orgânica, controlar a população de nematóides, manter as bananeiras bem nutridas com uma boa relação entre potássio, cálcio e magnésio (CORDEIRO, 2005).

Em condições de resistência parcial, a planta pode se desenvolver e frutificar sem ocorrer danos em sua estrutura física e fisiológica. Por outro lado, em condições de suscetibilidade a bananeira morre antes mesmo de produzir frutos. As cultivares resistentes são desenvolvidas pelo melhoramento genético com o conhecimento prévio sobre a planta hospedeira e o agente causador da doença. A produção de uma cultivar resistente inicia com a identificação de fontes de resistência no germoplasma e em seguida, por cruzamentos ou outros métodos, transfere-se essa característica para a nova cultivar. Alternativas de controle, como o controle químico, biológico e cultural podem ser realizadas, no entanto, a utilização de variedades resistentes é a medida mais viável para se controlar a doença. Por outro lado, outras medidas estão sendo estudadas para controlar mal do Panamá, tais como, a utilização de plantas transgênicas e estudo da ação do ácido salicílico na defesa da bananeira (WANG et al., 2015).

A falta de conhecimentos sobre a variabilidade genética é um dos principais problemas encontrados pelos melhoristas de bananeira. Pelo conhecimento da variabilidade genética em bananeira e no patógeno em uma região, pode se prever o nível de agressão que uma população de um fungo pode representar para variedades com diferentes graus de suscetibilidade.

A obtenção de fontes de resistência é uma importante etapa para o melhoramento que visa à obtenção de cultivares resistentes ao mal do Panamá. As cultivares resistentes são as maiores contribuições do melhoramento da bananeira, devido aos ganhos na produtividade, redução dos custos de produção e controle da doença (SILVA et al., 2016).

A bananeira, como todas as plantas, apresenta mecanismos de defesa que retardam ou impedem a penetração do patógeno (FERNANDES et al., 2009). A ativação desses mecanismos ocorre por meio de sucessivos eventos e sinais da planta, que se iniciam no reconhecimento do agente causal (FERNANDES et al., 2009). Ao acionar o processo, ocorre a ativação de mecanismos estruturais ou bioquímicos. Os mecanismos estruturais atuam como barreiras à penetração. Eles podem ser divididos em pré-formados ou pós-formados. Já os mecanismos bioquímicos englobam substâncias capazes de inibir o desenvolvimento do patógeno ou gerar condições adversas para a sua sobrevivência nos tecidos do hospedeiro (STANGARLIN et al., 2011).

A defesa da bananeira contra o FOC ocorre principalmente devido a presença de tilose, gomas e géis que são produzidos no xilema em resposta à infecção (DE ASCENÇÃO E DUBERY, 2000). Nas raízes ocorre o acúmulo de compostos fenólicos e lignina nas paredes celulares como mecanismos de defesa (DE ASCENÇÃO E DUBERY, 2000). Em cultivares resistentes esses compostos são produzidos mais cedo, inibindo a infecção sistêmica, devido a obstrução da ação do patógeno por estes compostos (PLOETZ, 2015). O FOC produz enzimas que degradam a parede celular, denominadas de celulases, as quais formam um complexo enzimático constituído por três enzimas β -1,4 glucanase, exo β -1,4 glucanases e β -1,4 glucosidase (PASCHOLATI, 1995). Além das celulases, o patógeno também produz as hemicelulases e as ligninas. Em cultivares suscetíveis, estas enzimas são produzidas pelo patógeno degradam o gel nos vasos do xilema antes da formação destas tiloses, permitindo a colonização da planta pelo fungo.

Em virtude da importância da bananeira para o Brasil e considerando os riscos atuais e futuros do mal do Panamá para o agronegócio da banana, com a possibilidade do aparecimento da raça 4 tropical, a presente trabalho teve como objetivo estudar população de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* do Brasil em

cultivares de bananeira e identificar fontes de resistência em acessos de bananeira do Banco Ativo de Germoplasma de Bananeira da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DE ASCENSÃO, A. R. D. C. F.; DUBERY, I. A. Panamá disease: cell wall reinforcement in banana root in response to elicitors from *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race four. **Biochemistry and Cell Biology**, Saint Paul, v. 90, p. 1173-1180, 2000.

AUORE G.; PARFAIT B.; FAHRASMANE L. Bananas, raw materials for making processed food products. **Trends Food Sci Technology**, Pointe-a`-Pitre, v. 20, n.2, p.78–91, 2009.

BUDDENHAGEN, I. W. Understanding strain diversity in *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* and history of introduction of ‘tropical race 4’ to better manage banana production. **Acta Horticulturae**, The Hague, v.828, p.193–204, 2009.

BUTLER, D. Fungus threatens top banana. **Nature** v. 504, p.195–196, 2013.

COUTEAUDIER, Y.; ALABOUVETTE, C. Survival and inoculums potential of conidia and chlamydospores of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* in soil. **Canadian Journal of Microbiology**, p.36, v. 551-556, 1990.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; KIMATI, H. Doenças em bananeira (*Musa* spp.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M. BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed). **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 4 ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2005. v. 2, p. 99-117.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P. Doenças da Bananeira. In: CORDEIRO, Z. J. M. **Banana Produção: Aspectos Técnicos**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 2000. p. 143.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A.P. Doenças da bananeira. In: FREIRE, F. C., CARDOSO, J. E.; VIANA, F. M. P. (Eds). **Doenças de fruteiras tropicais de**

interesse agroindustrial. Brasília- DF. Embrapa informação tecnológica. 2003. p.323-390.

DITA, M. A., ECHEGOYEN, P. E. AND PÉREZ-VICENTE, L. 2013. Plan de contingencia ante un brote de la raza 4 tropical de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* en un país de la región del OIRSA. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria – OIRSA. 155pp. San Salvador, El Salvador, julio de 2013.

DONG, X.; XIONG, Y.; LING, N.; SHEN, Q.; GUO, S. Fusaric acid accelerates the senescence of leaf in banana when infected by *Fusarium*. **World Journal Microbiology Biotechnology**, v. 30, p.1399-1408, 2014.

FAOSTART 2016: Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>.

FOURIE, G.; STEENKAMP, E. T.; GORDON, T. R.; VILJOEN, A. Evolutionary relationships among the vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, p. 4770-4781, 2009.

FOURIE, G.; STEENKAMP, E. T.; PLOETZ, R. C.; GORDON, T. R.; VILJOEN, A. Biology and evolution of *Fusarium oxysporum*, with specific reference to the banana wilt pathogen. **Infect. Genetic Evolution**, v.11, p. 533-542, 2011.

GARCIA, F. A.; ORDONEZ, N.; KONKOL, J. A. L.; QASEM, M.; NASER, Z.; ABDELWALI, M.; SALEM, N. M.; WAALWIJK, C.; PLOETZ, R. C.; KEMA, G. First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 associated with Panama disease of banana outside Southeast Asia. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 98, p. 694, 2013.

FERNANDES, C. F., VIEIRA J. J. R., SILVA, D. S. G., REIS, N. D. V., ANTUNES J. H. Mecanismos de defesa de plantas contra o ataque de agentes fitopatogênicos. p. 14, 2009.

LESLIE, J. F. Genetic exchange within sexual and asexual populations of the genus *Fusarium*. In *Fusarium* wilt of banana. **APS Press**. p. 55-62, 1990.

LI, C.; SHAO, J.; WANG, Y.; LI, W.; GUO, D.; YAN, B.; XIA, Y.; PENG, M. Analysis of banana transcriptome and global gene expression profiles in banana roots in response to infection by race 1 and tropical race 4 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **BMC Genomics**, v.14, p. 851, 2013.

MOORE, N. Y.; HARGREAVES, P.; PEGG, K. G.; IRWIN J. A. G. Characterization of strains of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* by production volátiles. **Australian Journal Botanic**, v. 39, p. 161-166, 1991.

ORDONEZ, N.; GARCIA BASTIDAS, F.; LAGHARI, H. B.; AKKARY, M. Y.; HARFOUCHE, E. N.; AL AWAR, B. N.; FRERES, D.; KEMA, G. H. J. First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 causing Panama disease in Cavendish bananas in Pakistan and Lebanon. **Plant Disease**. 2015

O' DONNELL, K.; KISTLER, H. C.; CIGELNIK, E.; PLOETZ, R. C. Multiple Evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies **Proceedings of the national academy of Sciences**, v. 95, p. 2044-2049, 1998.

PASCHOLATTI, S. F.. LEITE, B. Hospedeiro: mecanismo de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A., KIMATI, H., AMORIN, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Editora Ceres, 1995. v. 1 p. 415-453.

PÉREZ L. V. 2004. *Fusarium* wilt (Panama disease) of bananas: An updating review of current knowledge on the disease and its causal agent. XVI Reunión Internacional Acorbat. **Publicación Especial**. p. 15.

PLOETZ, R. C.; CORRELL J. C. Compatibility vegetative groups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*: classifying previously non characterized strains. **Acta Horticulture**, The Hague, v.275, p.699-706, 1990.

PLOETZ, R. C. Panama disease: a classic and destructive disease of banana. **Plant Health Prog**, v. 10, p.1–7, 2000.

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

PLOETZ, R. C.; FREEMAN, S.; KONKOL, J.; AL-ABED, A.; NASER, Z.; SHALAN, K.; BARAKAT, R.; ISRAELI, Y. Tropical race 4 of Panama disease in the Middle East. **Phytoparasitica**, v. 43, p.283-293, 2015.

PLOETZ, R. C.; KEMA, G. H. J.; Impact of diseases on export and smallholder production of banana. **Annual Revista Phytopathologic**, v. 53, p. 269-288, 2015.

PLOETZ, R. C. 2015. Fusarium Wilt of Banana. **Phytopathology**.

SILVA, S. O., AMORIM, E. P. SANTOS-SEREJO, J. A. BORGES, A. L. Cultivares. In: FERREIRA, C. F., SILVA, S. O., AMORIM, E. P., SANTOS-SEREJO, J. A. **O agronegócio da banana**. Embrapa: Brasília. p.137-170, 2016.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; TOLEDO, M. V.; PORTZ, R. L.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; PASCHOLATI, S. F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n. 1, p 18-46, 2011.

SANTOS, T. M.; COSTA M. R.; XAVIER A. A.; NIETSCHE S.; FERNANDES T. P.; PEREIRA G. V. N. Variabilidade genética de isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* obtidos de bananais do norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 2, p. 437-445, 2011.

STOVER, R. H. 1972. Banana, Plantain and Abaca Diseases. **Common wealth**

Mycological Institute, Kew, UK.

STOVER, R. H.; SIMMONDS, N. W. **Bananas**, 3 ed. Longmans, 1987.

SU, H. J.; HWANG, S. C.; KO, W. H. *Fusarium* wilt of Cavendish bananas in Taiwan. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 70, p. 814-818, 1986.

SOLURI, J. Consumo de massas, biodiversidade e fitomelhoramento da banana de exportação. **Varia história**, vol. 24, nº 39: p.47-70, 2008.

WAITE, B.H.; STOVER, R. H. Studies on *Fusarium* wilt of bananas. VI. Variability and cultivar concept in *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense. **Journal of Botany**, v.38, p985–994, 1960.

WANG, Z.; JIA, C.; LI, J.; HUANG, S.; XU, B.; JIN, Z. Activation of salicylic acid metabolism and signal transduction can enhance resistance to *Fusarium* wilt in banana (*Musa acuminata* L. AAA group, cv. Cavendish). **Functional & Integrative Genomics**, v. 15, p.47-62, 2015.

CAPÍTULO 1

AGRESSIVIDADE DE HAPLÓTIPOS DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

AGRESSIVIDADE DE HAPLÓTIPOS DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

RESUMO – A bananicultura apresenta grande importância no cenário agrícola brasileiro. A doença conhecida como mal do Panamá, causada pelo fungo de solo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC) causa severos danos em diferentes variedades de bananeira. O controle desta doença ocorre com a utilização de cultivares resistentes. Para isso, a caracterização de isolados de FOC em áreas produtoras de banana é fundamental para o estabelecimento de estratégias de trabalho. O objetivo desse trabalho foi selecionar os isolados mais agressivos de uma população de FOC para auxiliar no programa de melhoramento genético da bananeira. Foram realizados dois experimentos. O primeiro constou da seleção de 52 haplótipos identificados em uma população de 219 isolados coletados de diferentes regiões, enquanto que no segundo experimento foram avaliados 50 haplótipos frequentes na população considerando uma representatividade de 30% de cada haplótipos. Foram utilizadas as cultivares de bananeira, Maçã, Pacovan, Princesa e Prata Anã sendo estas inoculadas com uma suspensão de 1×10^6 microconídios mL⁻¹. As avaliações iniciaram-se com o aparecimento dos primeiros sintomas externos, e foram realizadas em intervalos de três dias, por 85 dias, utilizando escalas descritivas para sintomas externos e internos. As notas de severidade foram transformadas para índice da doença e fez-se o cálculo de área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD). Os resultados de AACPD e dos índices internos foram submetidos à análise de agrupamento utilizando o teste K-médias no Programa R. Os haplótipos de FOC 2011.21B, 2011.36A, 2011.34B, 2011.41B, 2011.120B, 2011.41A, 2011.06A, 2011.31B, 2011.140A, foram considerados muito agressivos nas cultivares suscetíveis de bananeira, podendo ser utilizados em Programas de Melhoramento para testar bananeira quanto a resistência genética. O conhecimento da variabilidade genética do patógeno auxiliará os melhoristas na escolha de isolados para testar variedades de bananeiras resistentes ao mal do Panamá.

PALAVRAS CHAVE: *Musa* spp., bananeira, mal do Panamá, variedades resistentes, isolados agressivos.

AGRESSIVENESS OF HAPLOTYPES OF *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

ABSTRACT - Banana crops present a great importance in the Brazilian agricultural scenario. A disease know as Panama disease, caused by the soil fungus cause severe damages in different varieties of banana. The disease control occurs with the use of resistant cultivar. For this purpose, the characterizations of FOC isolated in producing areas is key to establish new work strategies. The main objective of their study was to select the most aggressive isolated in a FOC population the help the genetic enhancement programs for banana crops. Two experiments have been made. The first consisted of selecting 52 haplotypes identified in a population of 219 isolated in different regions, while in the second experiment 50 frequent haplotypes were evaluated in a population considering 30% of representative for each haplotype. The cultivar Maçã, Pacovan, Princesa and Prata Anã were used, and they were inoculated with 1×10^6 microconidios mL⁻¹ suspension. The evaluate begun with the first external symptoms and they were made each three days, for 85 days , using descriptive scales for both external and internal symptoms the severity notes were translated into a disease index and the calculation was made under the disease progress curve(AACPD). The AACPD results and the internal indexes were submitted to groups analysis use the k-medias test in the R program. The haplotypes of FOC 2011.21B, 2011.36A, 2011.34B, 2011.41B, 2011.120B, 2011.41A, 2011.06A, 2011.31B, 2011.140A were considered very aggressive in the banana susceptible cultivar, which can be used in Enhacement Programs to test genetical resistant of banana. The genetical variability knowledge enhancement professionals in choosing isolated to test banana varieties resistant to panama disease.

Key words: *Musa* spp., banana crops, mal do panamá, resistants varieties, aggressive isolated

INTRODUÇÃO

A banana (*Musa* spp.) é considerada um dos frutos mais importantes do mundo (PLOETZ, 2015). No Brasil, a sua cultura ocupa o quinto lugar entre os principais países produtores, com uma produção de aproximadamente 7 milhões de toneladas. Em 2013, o Brasil apresentou uma área colhida de 480,8 mil hectares e um rendimento médio de 14,2 ton.ha⁻¹ (IBGE, 2013). Esse baixo rendimento resulta do uso de cultivares pouco produtivas e da incidência de doenças como mal do Panamá que causa prejuízos elevados na cultura e que só é controlada por meio de variedades resistentes (PLOETZ, 2015).

O mal do Panamá ou murcha do *Fusarium* é uma doença vascular causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* (FOC), que é um fungo habitante de solo que está distribuído por praticamente todo o território brasileiro onde se cultiva a bananeira (PLOETZ, 2015). A infecção ocorre pela ação do FOC inicialmente nas raízes secundárias e segue em direção ao xilema (CORDEIRO et al., 2005). No xilema, os microconídios (esporos primários) obstruem os tecidos condutores bloqueando o movimento da água, o que ocasiona o sintoma de murcha (FOURIE et al., 2011), provoca rachadura no pseudocaule e amarelecimento nas folhas mais velhas (PLOETZ, 2015, FOURIE et al., 2011). Os sintomas se intensificam com o amarelecimento nas folhas mais jovens. O amarelecimento foliar pode ser causado pela ausência de água na planta, mas está relacionada com a produção do ácido fusárico, uma fitotoxina produzida pelo FOC, que interfere no processo fotossintético (DONG et al., 2014). Às vezes ocorre outro sintoma como o estreitamento do limbo da bananeira. A intensidade dos sintomas está relacionada com o isolado e com o nível de suscetibilidade da planta hospedeira e depende também das condições ambientais como a temperatura e umidade relativa. Internamente, os vasos exibem uma coloração marrom-avermelhada, como resultado de oxidação e polimerização de compostos fenólicos que são lançados no parênquima dos vasos (CORDEIRO et al., 2005). As bananeiras suscetíveis morrem e o patógeno produz esporos de resistência, os clamidósporos, que ficam no solo por até 40 anos (BUDDENHAGEN et al., 2009).

O principal controle da doença baseia-se na utilização de cultivares que apresentam genes de resistência ao FOC. A obtenção de bananeiras resistentes é otimizada quando há informações sobre a variabilidade da planta hospedeira e sobre a população do patógeno em um dado local. Muitos trabalhos estão sendo desenvolvidos para compreensão da diversidade genética das variedades de bananeira (REIS 2013; JESUS, et al., 2010), no entanto, a variabilidade do *Fusarium* não é tão conhecida. O FOC está classificado dentro do complexo *Fusarium*, que é subdividido em seções, *formae speciales* e raças fisiológicas de acordo com as variações nas características morfológicas e patogênicas do fungo (FOURIE et al., 2011). Na *formae specialis cubense* ocorre uma subdivisão por raça que depende da variedade da planta infectada. Assim a raça 1 infecta as cultivares de bananeira Gros Michel (AAA) e espécies relacionadas como a *Musa textilis* (abacá), 'Gros Maqueño' (AAB), 'Silk' ou 'Macã' (AAB), 'Pomme' ou 'Prata' (AAB), 'Pisang Awak' (AAB), 'IC2' (AAAA híbrido melhorado). A raça 2 infecta 'Bluggoe' (ABB) e híbridos melhorados AAAA (FOURIE et al., 2011; PLOETZ 2015). A raça 3 infecta helicônias e, apesar de não pertencer às raças que infectam Musáceas infectou as bananeiras *Musa balbisiana* (BB) e 'Gros Michel' (AAA) (FOURIE et al., 2011). A raça 4 infecta as variedades de bananeira do Grupo Cavendish (Nanica, Nanicão e Grande Naine) e se subdivide em raça 4 tropical (TR4) e raça 4 subtropical (STR4) (PLOETZ, 2015).

O conhecimento sobre a agressividade de isolados de FOC é importante para os programas de melhoramento genético para a elaboração de estratégias para o desenvolvimento de variedades resistente ao mal do Panamá. Quanto maior a variabilidade do patógeno mais difícil o controle da doença e mais fácil a suplantação de resistência (STANGARLIN et al., 2011). Isolados que causam doenças em muitas variedades de bananeira são considerados mais adaptados e de melhor reprodução no processo infeccioso. A literatura científica apresenta alguns realizados trabalhos sobre a variabilidade do FOC, mas restam alguns pontos sobre os quais são necessários maiores esclarecimentos para a compreensão do patógeno (LI et al., 2013; BAI et al., 2014; WANG et al., 2015). Costa et al. (2014) classificou os isolados de FOC de diferentes regiões brasileiras em haplótipos de acordo com marcadores moleculares SSR. O termo haplótipo é definido como o

conjunto de alelos adjacentes ligados e situados em um mesmo segmento cromossômico (BORGES, 2001).

É importante conhecer as raças do fungo predominantes em um determinado local.

Entre as medidas de controle do mal do Panamá a resistência genética tem sido a forma mais eficiente. No entanto, a obtenção de resistência durável continua sendo um desafio para melhoristas e fitopatologistas. Para a obtenção de cultivar resistente faz-se necessário selecionar indivíduos com elevado nível de resistência ao patógeno para usar nos cruzamentos. Para tanto, deve-se conhecer a agressividade do fitopatógeno, pois as bananeiras selecionadas com um isolado com baixo nível de agressividade podem não ser resistentes a outros isolados mais agressivos. Assim, o presente trabalho teve como objetivo estudar a agressividade de uma população de FOC como forma de selecionar isolados mais agressivos que possam ser utilizados para a seleção de genótipos resistentes de bananeira.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia e em casa de vegetação da Embrapa Mandioca e Fruticultura em Cruz das Almas - BA. Os isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* foram provenientes da Micoteca do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa e obtidos a partir de amostras coletadas em diversos locais do Brasil e em diferentes variedades de bananeira com sintomas característicos de mal do Panamá (Tabela 1).

Os isolados, classificados por Costa et al. (2014) (Tabela 1) foram testados para agressividade com representantes de cada grupo de haplótipos. No primeiro experimento, foram usados 52 haplótipos, únicos e frequentes, enquanto que no segundo foram utilizados os 50 haplótipos mais frequentes (Tabela 1).

TABELA 1: Haplótipos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, local e variedade de origem, classificação e tipo de haplótipo. Cruz das Almas, 2016.

Haplótipos	Localidade	Variedade	Haplótipo	Tipo Haplótipo
2011.06A	Minas Gerais	Prata Anã	H1	Único

2011.09A	Bahia	Prata Anã	H44	Frequente
2011.12B	Minas Gerais	Prata Anã	H44	Frequente
2011.14A	Minas Gerais	Prata Anã	H2	Único
2011.15A	Minas Gerais	Prata Anã	H8	Único
2011.15B	Minas Gerais	Prata Anã	H11	Único
2011.16A	Minas Gerais	Prata Anã	H7	Frequente
2011.16B	Minas Gerais	Prata Anã	H41	Frequente
2011.17B	Minas Gerais	Prata Anã	H42	Único
2011.18B	Minas Gerais	Prata Anã	H44	Frequente
2011.20A	Minas Gerais	Prata Anã	H7	Frequente
2011.20B	Minas Gerais	Prata Anã	H7	Frequente
2011.21C	Minas Gerais	Prata Anã	H41	Frequente
2011.22A	Minas Gerais	Prata Anã	H50	Único
2011.22C	Bahia	Prata Anã	H51	Frequente
2011.23B	Bahia	Prata Anã	H49	Frequente
2011.24A	Bahia	Prata Anã	H49	Frequente
2011.25B	Bahia	Prata Anã	H18	Frequente
2011.25C	Bahia	Prata Anã	H49	Único
2011.26A	Bahia	Prata Anã	H7	Frequente
2011.27A	Bahia	Prata Anã	H5	Único
2011.28A	Bahia	Prata Anã	H7	Frequente
2011.29A	Bahia	Prata Anã	H7	Frequente
2011.30A	Bahia	Prata Anã	H10	Único
2011.30B	Bahia	Prata Anã	H6	Único
2011.31A	Bahia	Prata Anã	H7	Frequente
2011.31B	Bahia	Prata Anã	H25	Frequente
2011.32A	Bahia	Maça	H29	Único

2011.32B	Bahia	Maçã	H31	Frequente
2011.33A	Bahia	Maçã	H25	Frequente
2011.34A	Bahia	Maçã	H19	Frequente
2011.34B	Bahia	Maçã	H31	Frequente
2011.36A	Bahia	Maçã	H18	Frequente
2011.36B	Bahia	Maça	H31	Frequente
2011.37A	Bahia	Maçã	H46	Único
2011.39B	Bahia	Maçã	H31	Frequente
2011.41A	Bahia	Maçã	H52	Único
2011.41B	Bahia	Maçã	H34	Frequente
2011.42B	Bahia	Maçã	H48	Único
2011.46A	Bahia	Prata Anã	H15	Único
2011.55A	Bahia	Maçã	H7	Frequente
2011.59A	Bahia	Maçã	H41	Frequente
2011.60A	Bahia	Maçã	H7	Frequente
2011.61A	Bahia	Maçã	H7	Frequente
2011.62A	Bahia	Maçã	H7	Frequente
2011.63A	Bahia	Maçã	H7	Frequente
2011.64B	Bahia	Maçã	H7	Frequente
2011.65A	Bahia	Maçã	H7	Frequente
2011.66A	Bahia	Maçã	H7	Frequente
2011.68A	Bahia	Prata Anã	H7	Frequente
2011.68C	Bahia	Prata Anã	H7	Frequente
2011.69A	Bahia	Prata Anã	H41	Frequente
2011.70A	Bahia	Maçã	H47	Único
2011.70B	Bahia	Maçã	H13	Único
2011.71A	Bahia	Maçã	H21	Único

2011.72B	Bahia	Maçã	H38	Único
2011.73A	Espírito Santo	Prata Anã	H24	Frequente
2011.73C	Espírito Santo	Prata Anã	H36	Frequente
2011.74A	Bahia	Maçã	H14	Único
2011.77A	Bahia	Maçã	H45	Frequente
2011.77B	Bahia	Maçã	H7	Frequente
2011.78A	Bahia	Prata Anã	H32	Único
2011.79A	Bahia	Prata Anã	H22	Frequente
2011.82B	Bahia	Prata Anã	H26	Frequente
2011.83A	Bahia	Prata Anã	H26	Frequente
2011.88C	Bahia	Prata Comum	H7	Frequente
2011.90A	Bahia	Prata Comum	H7	Frequente
2011.91A	Bahia	Prata Comum	H7	Frequente
2011.94A	Bahia	Maçã	H23	Único
2011.96A	Bahia	Prata	H7	Frequente
2011.97C	Bahia	Prata	H7	Frequente
2011.99B	Bahia	Prata	H7	Frequente
2011.100A	Bahia	Prata	H43	Frequente
2011.100B	Bahia	Prata	H27	Único
2011.101A	Bahia	Prata	H28	Frequente
2011.101B	Bahia	Prata	H43	Frequente
2011.103C	Bahia	Prata	H26	Frequente
2011.104A	Bahia	Prata	H7	Frequente
2011.107B	Bahia	Prata	H7	Frequente
2011.108B	Bahia	Prata	H37	Frequente
2011.109A	Bahia	Prata	H7	Frequente
2011.110A	Bahia	Prata	H7	Frequente

2011.110B	Bahia	Prata	H37	Frequente
2011.111A	Bahia	Prata	H7	Frequente
2011.112A	Bahia	Prata	H7	Frequente
2011.113A	Bahia	Prata	H41	Frequente
2011.114A	Bahia	Prata	H41	Frequente
2011.115A	Bahia	Prata	H1	Frequente
2011.116B	Bahia	Prata	H3	Único
2011.119B	Bahia	Prata	H30	Único
2011.120A	Ceará	Maçã	H33	Único
2011.120B	Ceará	Maçã	H35	Único
2011.121A	Ceará	Maçã	H40	Único
2011.121B	Ceará	Maçã	H41	Frequente
2011.122B	Rio G. Norte	Tropical	H18	Frequente
2011.122C	Rio G Norte	Tropical	H18	Frequente
2011.127A	Rio G do Sul	Prata	H41	Frequente
2011.127B	Rio G do Sul	Prata	H41	Frequente
2011.135A	Rio G do Sul	Prata	H41	Frequente
2011.139B	Rio G do Sul	Prata	H4	Único
2011.140A	Rio G do Sul	Prata	H39	Único
2011.142A	Bahia	Prata Gorotuba	H17	Único
2011.148B	Bahia	BRS Conquista	H41	Frequente

Os isolados foram inoculados em cultivares de bananeira com diferentes níveis de suscetibilidade à raça 1: Maçã (altamente suscetível), Pacovan e Prata Anã (suscetível), Princesa (resistência intermediária).

Para o preparo da suspensão de conídios de FOC, os isolados foram cultivados por 8 dias em placas de Petri contendo meio BDA à temperatura de 25 °C. A suspensão de esporos foi preparada utilizando escovas de cerdas macias para

a raspagem das culturas e do micélio para o desprendimento dos esporos da superfície do micélio com a adição de água destilada estéril e duas gotas de tween 20. Os conídios foram quantificados em câmara de Neubauer em microscópio óptico e a concentração ajustada para 1×10^6 microconídios mL^{-1} . As raízes das bananeiras foram imersas na suspensão de conídios por uma hora e em seguida, as plantas foram levadas para tubetes contendo substrato vegetal, terra e vermiculita.

As avaliações de severidade iniciaram 15 dias após o plantio, com o aparecimento dos primeiros sintomas externos, e em intervalos de três dias por um período de 85 dias. Usou-se a escala descrita a seguir, onde: 1: sem sintomas; 2: amarelecimento inicial em folhas velhas; 3: amarelecimento de folhas velhas com descoloração inicial em folhas jovens; 4: todas as folhas com intenso amarelecimento e 5: planta morta (MOHAMED et al., 1999). Após a avaliação externa, as plantas foram removidas do substrato e avaliadas quanto à descoloração do rizoma, segundo escala de notas de Cordeiro et. al. (1993), onde: 1: ausência de sintomas, 2: pontos isolados de infecção, 3: descoloração de até 1/3 do anel formado pela região de origem das raízes, 4: descoloração entre 1/3 e 2/3 do anel, 5: descoloração acima de 2/3 do anel e 6: total descoloração do rizoma.

A partir dessas notas, foram calculados os índices da doença (ID), para sintomas externos (IDE) e internos (IDI), utilizando a fórmula de Mckinney's (MCKINNEY, 1923), onde $ID (\%) = 100 \cdot \sum[(f.v)/(n.x)]$, sendo ID: índice de doença; f: número de plantas com a mesma nota; v: nota observada; n: número total de plantas avaliadas e x: nota máxima da escala. Também foi determinada a área abaixo da curva de progresso da doença - AACPD. As análises estatísticas foram realizadas no programa R utilizando o teste K-médias (R CORE TEAM R, 2014) e considerando a AACPD e o índice interno da doença.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os haplótipos de FOC inoculados em bananeiras de diferentes níveis de resistência apresentaram alta variabilidade quando analisados em relação a seu nível de agressividade, com o teste k-means no Programa Computacional R. Os isolados analisados não apresentaram associação dos agrupamentos com origens geográficas e características morfológicas da colônia.

Autores afirmam que a espécie *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* são geralmente VCGs específicos em relação a sua patogenicidade (STOVER; BUDDENHAGEN, 1986; SU et al., 1986), no entanto, a variação genética que ocorre dentro dos grupos fisiológicos está relacionada com a adaptação e coevolução do fungo e a sua interação com o hospedeiro e com as variações ambientais locais. Os estudos filogenéticos baseados em dados moleculares (KOENIG et al., 1997; O'DONNELL et al., 1998; GROENEWALD et al., 2006; FOURIER et al., 2009) têm revelado essa variabilidade genética em FOC. Recentemente, alguns trabalhos abordaram a variabilidade com estudos de populações. Assim, Santos et al. (2011) estudou uma população de FOC oriunda de Minas Gerais por meio da aplicação de marcadores moleculares RAPD, cujos os resultados mostraram alta variabilidade genética de acordo com coeficiente de similaridade de Nei e Li. Cunha et al. (2015) analisou a variabilidade genética baseada na agressividade de isolados de FOC no estado de Santa Catarina e com dados moleculares obtidos por meio de marcadores moleculares SSR, ISSR, e sequenciamento do fator de alongação, dessa forma foi possível observar a agressividade relacionada com a origem geográfica e planta hospedeira e não foi observada relação entre os dados moleculares e agressividade. Com base nos vários estudos, pode-se afirmar que a variabilidade genética do isolado varia com a técnica molecular usada nos estudos (LEONG et al. 2009; VISSER et al. 2010; THANGAVELU et al. 2012). No entanto, os marcadores moleculares como RAPD, SSR, AFLP e ISSR e sequenciamento da região ITS, fator de alongação (TEF-1 α) e região IGS contribuem para compreender a variabilidade de FOC (O'DONNELL et al. 1998; BOGALE et al. 2005; GROENEWALD et al. 2006; KUMAR et al. 2006; LEONG et al. 2010; THANGAVELU et al. 2012).

Na Tabela 1, encontram-se os 52 haplótipos do primeiro experimento analisado quanto à agressividade. Com base nos dados de Índice externo da doença, índice interno da doença e Área abaixo da Curva do Progresso da doença foram formados quatro grupos de isolados, constituídos de 11 (primeiro grupo), 09 (segundo grupo), 20 (terceiro grupo) e 12 (quarto grupo).

Tabela 2: Agrupamento de isolados de *FOC* representantes de 52 haplótipos (frequentes e únicos) quanto à agressividade nas cultivares Maçã, Pacovan,

Princesa e Prata Anã no primeiro experimento em case de vegetação. Cruz das Almas, 2016.

Agrupamento	Haplótipos
Grupo 1	2011.18B, 2011.73C, 2011.15B, 2011.30B, 2011.15A, 2011.71A, 2011.30A, 2011.83A, 2011.116B, 2011.139A.I, 2011.139B.I
Grupo 2	2011.6A, 2011.41A, 2011.31B, 2011.120B, 2011.21B, 2011.36A, 2011.140A, 2011.34B, 2011.41B
Grupo 3	2011.23B, 2011.42B, 2011.40B, 2011.72B, 2011.94A, 2011.22A, 2011.27A, 2011.121A, 2011.32A, 2011.82B, 2011.78A, 2011.100A, 2011.124A, 2011.55A, 2011.119B, 2011.44B, 2011.100B, 2011.51A, 2011.70B, CNPMF0801
Grupo 4	2011.37A, 2011.17B, 2011.14A, 2011.46A, 2011.25C, 2011.74A, 2011.101A, 2011.120A, 2011.77A, 2011.70A, 2011.135A, 2011.142A

Como pôde ser observado, todos os indivíduos foram patogênicos a pelo menos uma das quatro cultivares avaliadas e um grupo de isolados causou maior índice da doença nas cultivares Pacovan e Prata Anã (2011.22C, 2011.23B, 2011.31B, 2011.36A, 2011.41A, 2011.41B, 2011.42B, 2011.120A, 2011.124A) (Tabela 3). O isolado padrão de FOC da Embrapa (CNPMF-0801) avaliado por Ribeiro et al. (2011) apresentou níveis de infecção na 'Maçã' idênticos aos observados no presente estudo enquanto as cultivares Prata Anã e Princesa comportaram-se como suscetíveis para alguns isolados enquanto a 'Maçã' que é suscetível, mostrou resistência intermediária para alguns isolados. Pode-se observar que houve uma resistência diferencial das cultivares em relação a alguns isolados de FOC.

No Grupo 1 (Tabela 2) do primeiro experimento estão os isolados que apresentaram as menores médias de AACPD e IDI. Entre esses isolados encontram-se 2011.116B, 2011.139B, 2011.30B, 2011.15B, 2011.83A e 2011.73C que não apresentaram AACPD para a cultivar Maçã (Tabela 3). Os valores de

Índices externos da doença não ultrapassaram 50% em nenhuma das variedades. Todos os haplótipos desse grupo foram originários dos estados de Minas Gerais e Bahia e retirados de bananeira Prata Anã (Tabela 1). Pode-se observar que ocorrem nesse grupo, haplótipos únicos e frequentes. Pode-se inferir que a maioria dos isolados desse grupo foram haplótipos únicos, possivelmente representado por um alelo adjacente ou mesmo um cromossomo. Os três isolados considerados frequentes agruparam-se com poucos indivíduos de acordo com a classificação de Costa et al. (2014).

No grupo 2 (Tabela 2), estão os haplótipos que apresentaram maior agressividade, com elevados índices de AACPD para a maioria das cultivares e com IDI que variou de 40% a 100% de severidade. Alguns isolados desse grupo apresentaram valores inferiores a 20% na cultivar Princesa (2011.21B, 2011.36A e 2011.06A) (Tabela 3). Nesse grupo os isolados 2011.31B, 2011.36A e 2011.41B apresentaram valores altos nas cultivares para a variável AACPD. Sessenta e três por cento desses isolados foram considerados haplótipos únicos (COSTA et al., 2013). Os haplótipos que apresentaram os maiores valores de AACPD foram aqueles dos estados da Bahia e Minas Gerais, com a maioria deles obtida na cultivar Prata Anã, que é predominante nos pólos de produção de Minas Gerais e Bahia. Observou-se também que a cultivar Prata Anã, considerada como moderadamente suscetível apresentou suscetibilidade em relação a esses isolados, o que pode ser observado com a infecção tanto de indivíduos mais agressivos, quanto a de indivíduos poucos agressivos. Trinta e sete por cento dos isolados eram haplótipos frequentes que estão presentes na Bahia (2011.31B e 2011.34B) e Rio Grande do Sul (2011.140A) (Tabela 1). Embora tenham sido retirados da cultivar Prata Anã, alguns isolados não apresentaram elevada severidade quando inoculados na nessa cultivar, o que pode ser devido a influência dos fatores ambientais (Tabela 1).

Tabela 3: Índice externo (IDE) e Índice interno (IDI) da doença, Área Abaixo da Curva do Progresso da Doença (AACPD) de isolados do *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, nas cultivares Maçã (MA), Prata Anã (P,A), Pacovan (PAC) e Princesa (PRI), Cruz das Almas, 2016.

Isolados	IDE ¹				IDI ²				AACPD			
	MA	P.A	PAC	PRI	MA	P.A	PAC	PRI	MA	P.A	PAC	PRI
2011.06A	6,52	47,3	7,15	30,3	52,0	86,00	98,0	46,00	111	519	811	124
2011.14A	4,21	10,7	11,4	0,00	32,0	54,00	38,0	4,00	71	177	196	0
2011.15A	1,26	4,94	0,00	0,00	2,00	42,00	2,00	20,0	20	86	0	0
2011.15B	0,00	0,00	0,00	0,00	18,0	0,00	6,00	100,	0	0	0	0
2011.17B	0,00	6,94	19,7	4,31	20,0	48,0	70,0	38,0	0	122	331	75
2011.18B	3,15	1,26	4,00	0,00	34,0	8,00	16,0	10,0	54	20	68	0
2011.21B	63,0	22,9	21,1	3,36	84,0	72,0	68,0	20,0	1080	388	365	60
2011.22A	0,00	38,1	31,6	0,00	100,	60,0	76,0	22,0	0	656	536	0
2011.22C	0,00	49,3	53,0	0,00	78,0	72,0	82,0	6,00	0	848	907	0
2011.23B	70,7	47,0	63,5	0,00	100,	90,0	100,	10,0	1224	804	1084	0
2011.25C	35,0	12,8	24,9	6,73	62,0	48,0	62,0	50,0	422	222	424	120
2011.27A	10,8	25,2	27,2	0,00	58,0	88,0	98,0	12,0	183	414	466	0
2011.30A	0,94	0,94	1,26	0,00	8,0	0,00	12,0	8,0	16	16	22	0
2011.30B	0,00	0,00	0,00	0,00	2,00	0,00	0,00	4,0	0	0	0	0
2011.31B	66,5	70,7	56,5	10,3	90,0	100,	80,0	54,0	1141	1123	960	171
2011.32A	37,7	44,3	53,5	0,00	76,0	80,0	90,0	28,0	645	764	927	0
2011.34B	38,3	36	28	41,6	70,0	72,0	58,0	78,0	656	602	474	702

2011.36A	45,2	43,7	52,4	12,7	72,0	78,0	100,	14,0	765	736	888	212
2011.37A	0,00	3,36	0,00	0,00	42,0	40,0	56,0	2,00	0	37	0	0
2011.39B	17,87	8,75	33,12	34,87	88,00	88,00	98,00	0,00	246	117	460	466
2011.40B	68,4	42,3	65,6	0,00	100	88,0	98,0	16,0	1186	726	1126	0
2011.41A	25,0	53,2	62,5	0,00	68,0	90,0	88,0	80,0	887	907	1066	0
2011.41B	26,4	58,4	53,1	56,0	54,0	82,0	88,0	80,0	451	1006	914	968
2011.44B	35,7	41,7	45,7	7,57	86,0	86,0	92,0	34,0	607	716	780	128
2011.42B	69,1	64,8	52,7	0,00	98,0	94,0	94,0	10,0	1192	1120	892	0
2011.46A	17,8	17,2	6,31	4,47	50,0	66,0	46,0	22,0	300	298	280	92
2011.51A	41,4	41,5	53,7	0,00	86,0	90,0	84,0	10,0	698	708	922	0
2011.55A	37,0	32,0	53,8	6,31	70,0	76,0	92,0	2,00	630	544	922	108
2011.70A	52,8	28,0	38,6	0,00	66,0	56,0	64,0	2,00	903	481	650	0
2011.70B	16,8	30,4	28,6	1,68	66,0	78,0	90,0	16,0	288	519	484	30
2011.71A	13,7	3,78	2,63	8,63	42,0	20,0	24,0	50,0	229	66	46	146
2011.72B	51,4	31,0	42,5	0,00	84,0	54,0	82,0	2,00	875	531	724	0
2011.73C	0,00	2,63	0,00	0,00	20,0	10,0	56,0	4,00	0	44	0	0
2011.74A	12,3	18,0	20,7	5,78	44,0	72,0	78,0	28,0	203	304	343	97
2011.77A	19,5	2,00	49,2	0,00	54,0	50,0	86,0	8,00	332	244	846	0
2011.78A	39,5	24,4	53,4	0,00	90,0	80,0	66,0	12,0	675	417	914	0
2011.82B	49,7	48,8	42,2	0,00	80,0	94,0	84,0	18,0	849	836	717	0
2011.83A	0,00	0,94	2,94	0,00	8,00	14,0	12,0	12,0	0	15	52	0
2011.94A	36,3	0,94	26,8	0,00	78,0	58,0	74,0	12,0	611	245	450	0

2011.100A	63,3	43,7	76,2	0,00	96,0	76,0	94,0	14,0	1083	736	1158	0
2011.100B	64,6	54,7	42,7	16,6	100	78,0	34,0	72,0	1108	932	732	284
2011.101A	13,7	32,8	19,0	6,10	68,0	62,0	64,0	24,0	238	557	317	104
2011.108B	46,7	20,4	26,9	6,73	78,0	50,0	84,0	14,0	803	352	464	116
2011.116B	0,00	0,21	0,00	0,00	12,0	26,0	12,0	8,00	0	45	0	0
2011.119B	29,0	43,2	22,9	5,89	74,0	76,0	74,0	18,0	490	575	384	100
2011.120A	55,0	58,1	52,1	0,00	94,0	0,00	70,0	22,0	950	1006	893	0
2011.120B	66,1	36,2	38,4	5,47	96,0	78,0	42,0	76,0	1131	620	666	92
2011.121A	53,2	28,8	43,2	0,00	72,0	74,0	24,0	76,0	916	495	738	0
2011.124A	58,6	44,7	64,5	0,00	92,0	86,0	90,0	16,0	1007	768	1109	0
2011.135A	31,0	6,94	42,7	0,00	64,0	56,0	54,0	4,00	524	119	716	0
2011.139A.I	53,4	0,42	0,63	0,00	2,00	10,0	2	0	914	6	11	0
2011.139B.I	0,00	0,00	0,84	0,00	24,0	4,00	12,0	20,0	0	0	15	0
2011.140A	14,5	29,8	43,0	6,00	42,0	62,0	86,0	58,0	252	495	736	100
2011.142A	4,63	25,3	18,7	0,00	50,0	56,0	68,0	26,0	80	425	320	0
CNPMF801	70,8	58,3	45,5	0,00	96,0	84,0	62,0	20,0	1213	995	770	0

¹Índice externo médio da doença de acordo com Mohamed *et al.* (1999)

²Índice interno da doença de acordo com Cordeiro *et al.* (1993)

Em estudo anterior da diversidade haplotípica (COSTA et al., 2014) foi possível agrupar os isolados que possivelmente apresentem características genéticas semelhantes.

No Terceiro Grupo (Tabela 2) formado pelos isolados 2011.23B, 2011.40B, 2011.42B, 2011.124A, 2011.100A, 2011.51A, CNPMF0801, 2011.78A, 2011.82B, 2011.32A, 2011.121A, 2011.27A, 2011.72B, 2011.94A, 2011.22A, 2011.55A, 2011.70B, 2011.119B, 2011.108B, 2011.44B, 2011.100B estão aqueles com os maiores índices internos da doença em todas as cultivares (Tabela 3). Nesse grupo estão os isolados de maior distribuição no país, oriundos dos estados da Bahia, Ceará, Rio Grande do Norte e Minas Gerais, que foram agrupados juntamente com o isolado padrão, raça 01 - CNPMF-0801, utilizado como controle do experimento (Tabela 1). O isolado 2011.124A desse grupo, coletado em Mossoró (RN), embora classificado como nível de agressividade intermediária apresentou os maiores valores de áreas abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) nas quatro cultivares. Já os isolados 2011.22A e 2011.22C não produziram sintomas externos na cultivar Maçã, apesar de sua alta suscetibilidade, mas, apresentaram altos valores de índice da doença nas demais cultivares, que possuem maiores níveis de resistência ao *FOC*. Nesse caso, a cultivar Maçã passou a ser considerada como de resistência intermediária e não altamente suscetível.

No Grupo 4 (Tabela 2) formado pelos isolados 2011.74A, 2011.25C, 2011.46A, 2011.17B, 2011.37A, 2011.14A, 2011.142A, 2011.135A, 2011.77A, 2011.70A, 2011.120A, 2011.101A, os isolados 2011.17B, 2011.25C, 2011.46A, 2011.74A e 2011.101A apresentaram baixos índices de AACPD na cultivar Princesa. Os demais isolados desse grupamento apresentaram valores nulos para essa variável na mesma cultivar. Por outro lado, todos os indivíduos desse grupo exibiram baixos valores de sintomas interno (IDI) em todas as cultivares. A maioria dos indivíduos desse grupo foi coletada em Minas Gerais, entretanto, observou-se participação de isolados do Rio Grande do Sul (2011.135A) e Ceará (2011.120A), Bahia (2011.25C, 2011.37A, 2011.77A, 2011.70A, 2011.46A, 2011.101A, 2011.142A), Minas Gerais (2011.14A, 2011.17B), portanto, com grande diversidade de local de coleta. Devido à presença de isolados provenientes de diferentes estados, faz-se necessária a realização de estudos filogenéticos (THANGAVELU,

2012). O teste de agressividade pode dar informações para o monitoramento dos isolados mais agressivos, como também, ser usado na avaliação da resistência varietal. Os isolados (2011.27A, 2011.70A, 2011.70B, 2011.72B, 2011.77A e 2011.55A) apresentaram características semelhantes às dos grupamentos 3 e 4. Foi observado que alguns isolados apresentavam características que os classificavam em mais de um grupo.

No segundo experimento (50 haplótipos) foram também formados quatro grupos (Tabela 4), em todos, foi observado que as bananeiras apresentaram sintomas de estreitamento no limbo das folhas mais jovens. Como no primeiro experimento os haplótipos apresentaram maior severidade nas cultivares Pacovan e Prata Anã do que na 'Maçã' (Tabela 5). Comparando os resultados dos dois experimentos, observou-se que os indivíduos do Experimento 2 exibiram valores de AACPD inferiores aos do primeiro experimento (Tabelas 3 e 5).

Os diferentes níveis de severidade da doença em bananeiras podem estar relacionados a isolados de FOC de diferentes variantes sendo necessária a inoculação desses isolados em variedades diferenciadoras para a classificação em raças fisiológicas (FOURIE et al., 2011; PLOETZ, 2015).

Tabela 4: Agrupamento de isolados de FOC representantes de 50 haplótipos (30% de representatividade dos isolados frequentes) quanto à agressividade na cultivares Maçã, Pacovan, Princesa e Prata Anã. Cruz das Almas, 2016.

Agrupamento	Haplótipos
Grupo 1	2011.52B, 2011.114A, 2011.139B, 2011.88C, 2011.07A, 2011.109A, 2011.139A, 2011.90A, 2011.103C, 2011.148B
Grupo 2	2011.110A, 2011.97C, 2011.99B, 2011.113A, 2011.69A, 2011.111, 2011.115A, 2011.12B, 2011.127A, 2011.26B, 2011.127B, 2011.39B, 2011.61A, 2011.140B, 2011.104A, 2011.101B, 2011.107B, 2011.34A,
Grupo 3	2011.112B, 2011.33A, 2011.122B, 2011.54B, 2011.23A, 2011.16B, 2011.103C, 2011.40A, 2011.122A, 2011.106A,

CNPMF0801	
Grupo 4	2011.112A, 2011.91A, 2011.96A, 2011.50A, 2011.16A, 2011.68A, 2011.79A, 2011.91A, 2011.52A, 2011.59A, 2011.21C

No primeiro grupo (Tabela 4), constituído de isolados únicos e frequentes foram observados que os isolados causaram sintomas leves da doença, diferente do que ocorreu no primeiro experimento. Vale ressaltar, que a maioria dos isolados causaram sintomas internos em todas as cultivares, com exceção dos isolados 2011.139A e 2011.109A que não apresentaram sintoma da doença na 'Princesa'. A Prata Anã foi a cultivar que apresentou os maiores valores de sintomas internos, entretanto, no geral, com baixos valores de AACPD.

Tabela 5: Índice externo (IDE) e Índice interno (IDI) da doença, Área Abaixo da Curva do Progresso da Doença (AACPD) de isolados do *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, nas cultivares Maçã (MA), Prata Anã (P,A), Pacovan (PAC) e Princesa (PRI), Cruz das Almas, 2016.

Isolados	IDE ¹				IDI ²				AACPD			
	MA	P.A	PAC	PRI	MA	P.A	PAC	PRI	MA	P.A	PAC	PRI
2011.07A	8,25	0,00	17,62	0,00	40,00	38,00	52,00	8,00	114	240	0	0
2011.12B	32,50	4,62	12,50	2,00	68,00	44,00	44,00	46,00	487	58	169	16
2011.16A	52,37	42,25	26,62	0,00	64,00	96,00	78,00	30,00	726	576	369	0
2011.16B	11,12	19,50	1,12	54,12	0,00	60,00	78,00	26,00	154	748	264	13
2011.19A	41,37	44,50	32,00	16,62	64,00	96,00	78,00	30,00	581	609	439	230
2011.21C	36,37	28,50	13,75	0,00	72,00	56,00	36,00	10,00	497	387	176	0
2011.26B	8,25	0,125	20,75	0,00	50,00	52,00	80,00	10,00	108	1	279	0
2011.33A	32,25	43,62	10,0	30,87	92,00	100,0	54,00	44,00	433	600	133	428
2011.34A	31,37	24,50	39,00	0,50	66,00	90,00	66,00	20,00	432	3	544	4
2011.40A	44,5	53,0	21,0	2,87	72,0	100	46,0	38,0	619	736	289	35
2011.39B	17,87	8,75	33,12	34,87	88,00	88,00	98,00	0,00	246	117	460	466
2011.51B	25,37	36,62	30,37	8,75	68,00	74,00	74,00	24,00	342	507	416	122
2011.52A	26,87	33,87	18,12	2,00	72,00	96,00	70,00	44,00	367	470	248	16
2011.52B	0,87	1,12	5,00	6,5	14,00	26,00	56,00	18,00	9	54	92	9
2011.54B	19,00	42,12	23,50	0,00	88,00	92,00	74,00	12,00	262	573	319	0
2011.59A	45,75	11,50	16,00	0,00	24,00	54,00	24,00	60,00	630	153	214	0
2011.61A	20,0	12,37	33,87	0,00	90,00	80,00	62,00	26,00	260	161	456	0

2011.68A	50,00	21,00	20,25	0,00	84,00	84,00	66,00	18,00	690	283	280	0
2011.69A	25,5	14,00	10,62	20,37	68,00	74,00	50,00	58,00	353	187	143	280
2011.78A	39,57	24,42	53,47	0,00	90,00	80,00	66,00	12,00	675	417	914	0
2011.79A	60,62	40,00	32,00	0,00	100,0	80,00	56,00	18,00	850	550	440	0
2011.88C	0,25	9,25	0,00	0,00	44,00	34,00	46,00	16,00	3	125	0	0
2011.90A	1,75	0,00	7,00	7,00	64,00	64,00	42,00	16,00	18	0	91	88
2011.91A	43,62	28,87	38,25	0,00	0,00	92,00	72,00	12,00	593	390	549	0
2011.96A	66,00	57,62	30,12	0,00	96,00	100,0	80,00	20,00	934	802	420	0
2011.97C	21,12	5,25	5,00	25,5	74,00	40,00	56,00	74,00	291	66	52	332
2011.99B	16,0	10,5	29,1	24,37	56,00	56,00	72,00	72,00	221	331	399	135
2011.101B	25,00	4,75	11,87	0,37	74,00	62,00	40,00	24,00	344	59	156	3
2011.103B	45,75	42,37	38,50	4,00	96,00	94,00	92,00	50,00	496	587	261	52
2011.103C	2,12	12,62	17,37	0,00	50,00	88,00	58,00	6,00	19	169	248	0
2011.104A	13,75	9,62	31,5	11,75	46,00	64,00	72,00	20,00	190	131	436	164
2011.106A	25,75	16,87	32,75	0,00	58,00	74,00	100,0	34,00	354	226	448	0
2011.107B	18,62	20,12	13,25	0,25	62,00	62,00	62,00	22,00	254	265	176	2
2011.109A	0,00	3,25	12,25	0,00	44,00	36,00	40,00	0,00	0	41	166	0
2011.110A	10,25	8,5	22,12	22,87	78,00	22,00	80,00	94,00	126	114	291	299
2011.110B	15,62	16,75	23,75	30,62	68,00	60,00	83,00	48,00	217	220	314	205
2011.111A	10,0	26,12	26,75	12,87	44,00	66,00	54,00	46,00	122	332	357	112
2011.112A	63,25	14,87	22,75	0,00	54,00	50,00	52,00	0,00	812	203	309	0
2011.112B	36,37	52,12	42,25	28,50	60,00	58,00	76,00	96,00	509	715	615	383

2011.113A	12,87	21,62	29,50	20,50	66,00	72,00	74,00	70,00	166	294	399	281
2011.114A	0,75	0,37	0,00	0,00	56,00	18,00	40,00	12,00	6	3	0	0
2011.115A	1,5	0,50	46,12	0,00	60,00	44,00	66,00	32,00	20	5	638	0
2011.119B	29,05	43,21	22,94	5,89	74,00	86,00	74,00	74,00	490	384	100	575
2011.122A	43,37	2,12	21,62	0,00	84,00	66,00	74,00	40,00	602	299	291	0
2011.122B	35,00	48,87	40,87	0,00	68,00	100,0	78,00	8,00	489	666	554	0
2011.127A	39,50	1,50	13,37	24,62	68,00	52,00	76,00	66,00	547	20	171	327
2011.127B	22,00	0,62	23,87	0,62	80,00	38,00	66,00	18,00	297	5	324	5
2011.139A.II	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00	24,00	4,00	0,00	0	0	0	0
2011.139B.II	0,12	0,00	0,00	0,25	26,00	4,00	34,00	14,00	1	0	0	3
2011.148B	5,50	0,00	18,50	5,50	66,00	42,00	74,00	24,00	66	0	257	76
CNPMF801	70,84	58,31	45,57	0,00	96,00	80,00	80,00	20,00	1213	995	770	0

¹Índice externo médio da doença de acordo com Mohamed *et al.* (1999)

²Índice interno da doença de acordo com Cordeiro *et al.* (1993)

Os isolados do grupo 2 apresentaram sintomas da doença em todas as cultivares analisadas (Tabela 5) com alta agressividade, com exceção para os isolados 2011.101B e 2011.127B que apresentaram índices baixíssimos de AACPD na cultivar Princesa com valores de 3 e 5, respectivamente.

Os isolados do grupo 3 (Tabela 4), 2011.112B, 2011.33A, 2011.122B, 2011.54B, 2011.23A, 2011.16B, 2011.103C, 2011.40A, 2011.122A, 2011.106A, CNPMF0801, foram classificados por apresentarem os maiores valores de Índices internos da doença nas cultivares Maçã e Prata Anã, cujos os valores foram acima de 70% de severidade nos rizomas dessas bananeiras, e nas cultivares Pacovan e Princesa no entanto, os valores de IDI foram medianos (Tabela 5).

No grupamento 4, os isolados se destacaram por apresentar características bem diferenciadas. Alguns isolados desse grupamento não apresentaram sintomas na Princesa e nem na Prata Anã (Tabela 5). Observou-se que, alguns isolados foram classificados em mais de um grupo.

Considerando os haplótipos avaliados nos dois experimentos, foi possível observar que os isolados 2011.15B, 2011.120B, 2011.121A, 2011.112B, 2011.110A, 2011.41A, 2011.41B, 2011.34B, 2011.119B, 2011.25C, 2011.97C, 2011.99B, 2011.113A, 2011.112B, 2011.100B, 2011.127A, 2011.59A apresentaram índices maiores que 60% na cultivar Princesa, que é considerada uma bananeira com resistência intermediária, o que proporciona suportar a ação do patógeno, podendo inclusive produzir frutos antes de ser totalmente infectada pelo FOC. Os isolados 2011.91A, 2011.16B não apresentaram sintoma na cultivar Maçã, enquanto os haplótipos 2011.41B, 2011.42B, 2011.44B, 2011.36A, 2011.31B, 2011.40B, 2011.100B, 2011.100A, 2011.112B, 2011.120A, 2011.124A, apresentaram os maiores valores de área abaixo da curva do progresso da doença. Assim foi possível observar a diversidade dentro da espécie *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* no Brasil em termos de agressividade.

CONCLUSÃO

Os haplótipos de FOC 2011.21B, 2011.36A, 2011.34B, 2011.41B, 2011.120B, 2011.41A, 2011.06A, 2011.31B, 2011.140A, 2011.110A, 2011.97C, 2011.99B,

2011.127A, 2011.113A, 2011.140A, 2011.69A, 2011.111A, 2011.104A, 2011.115A, 2011.101B, 2011.12B, 2011.33A, 2011.61A, 2011.34A, 2011.107A foram considerados muito agressivos nas cultivares suscetíveis de bananeira, portanto, podem ser utilizados em Programas de Melhoramento para testar bananeira quanto a resistência genética.

Os isolados que apresentaram agressividade mediana foram 2011.23B, 2011.40B, 2011.42B, 2011.124A, 2011.100A, 2011.51A, CNPMF0801, 2011.78A, 2011.82B, 2011.32A, 2011.121A, 2011.27A, 2011.72B, 2011.94A, 2011.22A, 2011.55A, 2011.70B, 2011.119B, 2011.108B, 2011.44B, 2011.100B, 2011.74A, 2011.25C, 2011.46A, 2011.17B, 2011.37A, 2011.14A, 2011.142A, 2011.135A, 2011.77A, 2011.70A, 2011.120A, 2011.101A, 2011.112B, 2011.103C, 2011.139B, 2011.122B, 2011.52A, 2011.54B, 2011.40A, 2011.122A, 2011.23A, 2011.16A, 2011.50A, 2011.68A, 2011.79A, 2011.96A, 2011.91A, 2011.112A, 2011.21C.

Já os isolados 2011.71A, 2011.14A, 2011.139A, 2011.139B, 2011.18B, 2011.73C, 2011.83A, 2011.116B, 2011.15B, 2011.30B, 2011.90A, 2011.52B, 2011.114A, 2011.07A, 2011.109A, 2011.148B, 2011.88C apresentaram baixa agressividade nas cultivares analisadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAI, T. T.; XIE, W. B.; ZHOU, P. P.; WU, Z. L.; XIAO, W. C.; ZHOU, L.; SUN, J.; RUAN, X. L.; LI, H. P. Transcriptome and expression. Profile analysis of highly resistant and susceptible banana roots challenged with *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense tropical race 4. **Plos One** **8**, p.739-745, 2014.

BORGES-OSÓRIO, M. R.; ROBINSON, W. M. Genética Humana. Porto Alegre: Artemed, 2001.

BUDDENHAGEN, I. W., Understanding strain diversity in *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* and history of introduction of 'tropical race 4' to better manage banana production. In: Proceedings of the International Symposium on Recent Advances in Banana Crop Protection for Sustainable Production and Improved Livelihoods, White

River, South Africa. **ISHS ACTA HORTICULTURAE**, 828 [Ed. by Jones, D. Bergh, I. Van Den. ISHS, p.193-204, 2009.

COSTA, S. N.; BRAGANÇA, 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. *ubense* in different regions from Brazil. **Plant Pathology**, v. 63, p.1-10, 2014.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; KIMATI, H. Doenças da bananeira (*Musa* spp.). In: KIMATI, H., AMORIM, L., REZENDE, J.A.M., BERGAMIN FILHO, A., CAMARGO, L.E.A. (Eds.). **Manual de Fitopatologia**. Doenças das plantas cultivadas. 4 ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, v.2, p.99-117, 2005.

CORDEIRO, Z. J. M.; SHEPHERD, K.; SOARES FILHO, W. S.; DANTAS, J. L. L. Avaliação de resistência ao mal do Panamá em híbridos tetraploides de bananeira. **Fitopatologia Brasileira**, Jaboticabal, v.18, p.478-483, 1993.

DONG, X.; XIONG, Y.; LING, N.; SHEN, Q.; GUO, S. Fusaric acid accelerates the senescence of leaf in banana when infected by *Fusarium*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. v. 30, p. 1399-1408, 2014.

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

JESUS O. N. **Caracterização Molecular de Acessos de bananeira do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa**. 2010, 137f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", São Paulo.

LI, C.; SHAO, J.; WANG, Y.; LI, W.; GUO, D.; YAN, B.; XIA, Y.; PENG, M. Analysis of banana transcriptome and global gene expression profiles in banana roots in

response to infection by race 1 and tropical race 4 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **BMC Genomics**, v.14, p. 851, 2013.

McKINNEY, R. H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, v.6, p.195-218, 1923.

MOHAMMED, Early evaluation of banana plants at nursery stage for *Fusarium* wilt tolerance. Proceedings of the International Workshop on the Banana Fusarium Wilt Disease held at Genting Highlands, Malaysia, October 1999.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; TOLEDO, M. V.; PORTZ, R. L.; SCHWANSTRADA, K. R. F. PASCHOLATI, S. F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.10, n.1, p.18-46, 2011.

PLOETZ R. C. 2015. Fusarium Wilt of Banana. **Phytopathology**.

R CORE TEAM R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Available at: <http://www.R-project.org>. 2014.

RIBEIRO, L. R.; AMORIM, E. P.; CORDEIRO, Z. M.; SILVA, S. O.; DITA, M. A. Discrimination of banana genotypes for Fusarium wilt resistance in greenhouse. **Acta Horticultura**, v.897, p.381-385, 2011.

THANGAVELU, R.; KUMAR, K. M.; DEVI, P.G.; MUSTAFFA, M. M. Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* isolates (FOC) of India by inter simple sequence repeats (ISSR) analysis. **Molecular Biotechnology**. v. 51, p. 203–211, 2012.

WANG, Z; JIA C.; LI, J.; HUANG, S.; XU, B.; JIN, Z. Activation of salicylic acid metabolism and signal transduction can enhance resistance to Fusarium wilt in banana (*Musa acuminata* L. AAA group, cv. Cavendish). **Functional & Integrative Genomics**, v.15, p. 47-62, 2015.

CAPÍTULO 2

**FONTES DE RESISTÊNCIA A *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* EM
GERMOPLASMA DE BANANEIRA**

FONTES DE RESISTÊNCIA A *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense* EM GERMOPLASMA DE BANANEIRA

RESUMO – O *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense* (FOC) é o agente causal do mal do panamá da bananeira. Praticamente todo o território brasileiro apresenta a doença, que afeta a maioria das cultivares. O controle do mal do panamá se faz com o uso de variedades resistentes e para a sua obtenção faz-se necessário identificar fontes de resistência genética no germoplasma de bananeira. Assim, o principal objetivo do presente estudo foi identificar fontes de resistência em acessos do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de Bananeira da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Foram utilizados 40 acessos do BAG, sendo 17 diplóides, 21 triplóides e dois tetraplóides. Os acessos foram inoculados com o isolado CNMPF0801 (raça 1), em substrato fubá areia (5:1) na concentração de 1×10^6 esporos g^{-1} de substrato. As avaliações foram realizadas por meio de escala de notas para os sintomas externos e internos. A avaliação interna foi realizada 85 dias depois da inoculação. O delineamento foi o inteiramente casualizado com oito repetições. Foram avaliadas a área abaixo da curva do progresso da doença, Índice Interno da doença e período de incubação. O período de incubação do fungo foi considerado concluído quando 50% das plantas apresentaram sintomatologia típica da doença. Os dados de severidade foram transformados para Índice de doença e agrupados pelo teste K-means no Programa Computacional R. O acesso M53 não apresentou sintomas de mal do panamá e, portanto, pode ser utilizado como parental em programas de melhoramento genético contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense*. Os genótipos Birmanie, PA Songkla, Pirua, Imperial, Poyo, Ambei, Walebo e Kongo FRF 1286 exibiram baixos índices internos de doença podendo ser utilizados no desenvolvimento de cultivares resistentes.

RESISTANCE SOURCES TO *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense* IN BANANA GERMOPLASMA

ABSTRACT – The FOC is the causing agent of the Panama disease. It can be said that this disease is present in all national territory of Brazilian affects the majority of cultivars. The Panama disease control is made by the resistant varieties and to obtain these varieties it is necessary to identify genetic resistance sources in genotypes of banana. Therefore, the main purpose of this study was to identify resistance sources in access of Banco Ativo de Germoplasma of Banana from Embrapa Mandioca e Fruticultura. Around 40 accesses were used from BAG in which 17 diploides, 21 triploides and 2 tetraploides. The accesses were evaluated with the corn meat/sand substrate (5:1) inoculated Cnprmf0801 that after 15 days of growing was adjusted to 1×10^6 spores g^{-1} of substrate. The evaluate were made by note scales of internal and external symptoms. The internal evaluation was made by scales of internal and external symptoms. The internal evaluation was made 85 days after inoculation. The design was the one entirely casualized with 8 repetitions. The area below the Progress Curve the Disease and incubation period were evaluated. The fungus incubation period was concluded when 50% of the disease. The severity data were translated into a Disease Index and were grouped by the k-means test in Computer Program R. The access M53 did not present symptoms for Panama disease and, because of that, can be used as parental in genetic enhancement programs against FOC. The genotypes Birmanie, PA Songkla, Pirua, Imperial, Poyo, Ambei, walebo and Kongo FRF 1286 exhibited low indexes internal for the disease and can be used in the development of resistant cultivars.

KEY-WORDS: *Musa* spp., mal do Panamá, varieties, resistance genetic.

INTRODUÇÃO

A bananicultura apresenta elevado potencial de geração de emprego e renda e a banana é base alimentar em muitos países. O Brasil está entre os cinco maiores produtores mundiais de banana (FAOSTART, 2016). No entanto, as variedades mais usadas são afetadas pelo mal do Panamá, doença que só é controlada eficientemente com a utilização de variedades resistentes (SILVA et al., 2016, PLOETZ et al., 2015).

O mal do Panamá é uma doença da bananeira causada pelo fungo habitante de solo, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC). O patógeno apresenta alto potencial evolutivo, sendo conhecidas atualmente três raças fisiológicas (raça 1, raça 2, raça 4) e 23 grupos de Compatibilidade Vegetativas (VCGs) (FOURIE 2011; PLOETZ, 2015). A raça 1 afeta as cultivares Gros Michel, *Musa textilis* (abacá), 'Gros Maqueno', 'Silk' ou 'Maçã' (AAB), Seda (AAB) 'Pomme' ou 'Prata', e 'Pisang Awak' (ABB), 'IC2' (AAAA híbrido melhorado). A raça 2 afeta 'Bluggoe' (ABB) e híbridos melhorados AAAA. A raça 3 não infecta diretamente a espécie *Musa*, e sim helicônia. No entanto, esta raça foi encontrada em mudas de *Musa balbisiana* (BB) e 'Gros Michel' (AAA). A raça 4 afeta várias cultivares, entre elas, todas as do subgrupo Cavendish (FOURIE et al, 2011, PLOETZ et al., 2015). As estirpes dessa raça é dividida em Tropical (TR4) e Subtropical (ST4) (PLOETZ, 2006; BUTLER 2013). As raças 1 e 2 de FOC estão distribuídas por praticamente, todo o território brasileiro, enquanto a TR4 ainda não está presente no Brasil, mas se acidentalmente introduzida, poderá afetar todas cultivares consideradas resistentes (DITA et al., 2013).

O Banco Ativo de Germoplasma de Bananeira da Embrapa é composto por 323 acessos que apresentam grande diversidade de características de importância agronômicas, incluindo valiosa fonte de resistência às principais doenças da bananeira. Para que esse germoplasma atenda as demandas do melhorista, são realizadas atividades de coleta, caracterização e manutenção indispensáveis para ampliar e preservar a variabilidade genética existente.

A identificação de fontes de resistência é o passo inicial para a obtenção de novas variedades resistentes (SILVA et al., 2016). É imprescindível a procura por

fontes de resistência no germoplasma das espécies, principalmente entre os genótipos selvagens que se constituem como fontes de alelos para resistência genética (LI et al., 2015; LESSA et al., 2014).

A bananeira considerada resistente pode reduzir, impedir ou retardar o desenvolvimento da doença (SHEW & SHEW, 1994). No entanto, a resistência necessita ser durável e para se ter essas informações são necessários estudos prévios sobre a variabilidade do patógeno e da planta hospedeira. O conhecimento da variabilidade dos patógenos e da estabilidade de suas características na população hospedeira, associado ao uso de uma rápida metodologia de detecção da doença, é imprescindível para a identificação de fontes de resistência, que poderão ser utilizados extensivamente em programas de melhoramento da bananeira. A utilização de cultivares resistentes, além de ser viável para o controle do mal do Panamá apresenta outras vantagens como, a de não causar dano ao ambiente, ter baixo custo e ser de fácil implantação (SILVA et al., 2016).

O teste de resistência de genótipos pode ser realizado em campo experimental, previamente infectado com isolados de FOC. O processo de avaliação é longo, dura em média dois anos, período em que a bananeira completa dois ciclos de produção. Assim, só depois desse período se tem a avaliação da resistência ou suscetibilidade de um genótipo. Por outro lado, no teste de resistência, conduzido em casa de vegetação, o tempo de avaliação é reduzido para três meses, pode ser realizado em pequeno espaço e serem utilizados isolados diferentes, impossível de ser aplicado em campo experimental (RIBEIRO et al., 2015). Com a avaliação individual dos isolados nos diferentes acessos é possível observar elevado danos em indivíduos que antes eram classificados como de resistência intermediária (RIBEIRO et al., 2011). A identificação de fontes de resistência em casa de vegetação é realizada com uma metodologia rápida e eficaz, capaz de pré-selecionar genótipos para resistência ao mal do Panamá (RIBEIRO et al., 2011). Assim o principal objetivo do presente trabalho foi identificar genótipos, do Banco Ativo de Germoplasma de Bananeira, resistentes ao *Fusarium* raça 1 (CNPMPF-0801) para uso no melhoramento genético da cultura.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois experimentos em casa de vegetação da Embrapa Mandioca e Fruticultura, com 40 genótipos (selvagens, diplóides melhorados, triplóides e tetraplóides comerciais) de bananeira do Banco Ativo de Germoplasma (Tabela 1). As plantas foram micropropagadas pela técnica de cultura *in vitro* e aclimatadas por 90 dias em casa de vegetação.

Tabela 1: Descrição dos genótipos de bananeira utilizados no teste de resistência genética à raça 1 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, em casa de vegetação.

Genótipo	Genoma
<i>Musa ornata</i> x <i>Musa velutina</i>	ES
2803-1	AA
M53	AA
Pisang jarak	AA
Buitenzorg	AA
Birmanie	AA
Mambee Thu	AA
Fako Fako	AA
PA Songkla	AA
Malaccensis	AA
AS	AA
Psang Berlin	AA
Pisang Tongat	AA
Pisang Pipit	AAA
Tuu Gia	AA
Pisang Nangka	AAB
Tjau Lagada	AA
Mangana	AA
M-61	AAA
Pirua	AAA

Imperial	AAA
Poyo	AAA
Ambei	AA
Walebo	AAA
Gros Michel	AAA
M-61	AA
Nanica	AAA
Markatooa	AAA
Figue Rose Naine	AAB
Pisang Ustrali	AAB
Figo Cinza	ABB
Nanicaõ Magario FRF 1292	AAA
Robusta	AAA
Kongo FRF 1286	AAA
Prata Maceió	AAB
Prata Anã 2	AAB
Prata Anã 1	AAB
Grande Naine P. Formoso	AAA
Pacovan	AAB
Prata Anã	AAB
PA 42-44	AAAB
PV03-79	AAAB

Os testes de patogenicidade foram feitos com inóculo de *Fusarium* (CPMF0801) produzido em fubá areia (FA). O substrato (FA) foi constituído de areia: fubá de milho na proporção de 5:1, com adição de 150 mL de água destilada esterilizada. A mistura foi acondicionada em sacos plásticos e autoclavada à 120 °C durante duas horas. Após o esfriamento do substrato, discos retirados de cultura de FOC, com sete dias de incubação foram inoculados nos sacos, que posteriormente, foram mantidos em câmara de crescimento a 25 °C por 15 dias (Figura 1). Para quantificar a concentração do inóculo, foram realizadas diluições seriadas, com o ajuste para 10^6 UFC de FOC grama⁻¹ de substrato. No primeiro experimento foram

avaliados os acessos SA, Mambee Thu, Pisang Rojo Uter, Pisang Pipit, Poyo, Birmanie, Pirua, Walebo, Imperial, PA Songkla, Walebo, Imperial, Pisang Nangkla, Pisang Jahah, Pisang Berlin, 2803-01, Tjau Lagada, Mangana, Ambei. No segundo experimento foram avaliados os genótipos, Grande Naine P. Formoso, Malacensis, Pisang Tongat, Figo Cinza, M61, Nanicão Magário, FRP 1292, Tuu Gia, Buitenzorg, PA42-44, Nanica, M53, Kongo FRF 1286, PV03-76, Pacovan, Pisang Ustali, Fako Fako, Figue Rose Naine, Prata Anã 2, Robusta, Musa Ornata x Velutina, Prata Maceió. Para a inoculação das plantas, dez gramas do inóculo foram colocados em quatro orifícios do solo ao redor das mudas. Utilizaram-se oito repetições por genótipos, em delineamento inteiramente casualizado. O controle constou dos indivíduos inoculados com o substrato sem o patógeno.

O período de incubação (PI) foi considerado o tempo decorrido entre a inoculação e o aparecimento de sintomas em 50 % das plantas. A severidade da doença foi avaliada a partir do aparecimento dos sintomas externos, em intervalos de três dias, até 85 dias após a inoculação, de acordo com a seguinte escala: 1: sem sintomas; 2: amarelecimento inicial em folhas velhas; 3: amarelecimento de folhas velhas com descoloração inicial em folhas jovens; 4: todas as folhas com intenso amarelecimento; 5: planta morta (MOHAMED et al., 1999). Depois de 85 dias da inoculação, as plantas foram removidas do substrato e avaliadas quanto à descoloração do rizoma, segundo escala de notas de Cordeiro et. al. (1993): 1: ausência de sintomas; 2: pontos isolados de infecção; 3: descoloração de até 1/3 do anel formado pela região de origem das raízes; 4: descoloração entre 1/3 e 2/3 do anel; 5: descoloração acima de 2/3 do anel e 6: total descoloração do rizoma.

A partir dessas notas, foram calculados os índices da doença (ID), para sintomas externos (IDE) e internos (IDI), com o uso da fórmula de McKinney's (MCKINNEY, 1923), onde $ID (\%) = 100 \cdot \sum[(f.v)/(n.x)]$, sendo ID: índice de doença; f : número de plantas com a mesma nota; v: nota observada; n : número total de plantas avaliadas e x : nota máxima da escala. Calculou-se a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), utilizando o IDE (CAMPBELL, MADDEN, 1990). As análises foram realizadas no programa R utilizando o teste K-médias (R CORE TEAM R, 2014), considerando a AACPD e o IDI.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela análise de agrupamentos, os acessos do Banco Ativo de Germoplasma, avaliados nos dois experimentos, foram classificados em duas categorias ou níveis de resistência genética (Tabelas 2 e 3). No grupo 1 estão os acessos suscetíveis e no 2 os resistentes ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, raça 1. Embora agrupados como resistentes ou suscetíveis, os acessos apresentaram diferentes valores AACPD e IDI. No grupo 1, suscetível, o valor de AACPD variou de 688 a 1155 para Pisang Pipit e Gros Michel respectivamente, enquanto a variação do IDI foi de 3,33 para a Imperial e 96,66 para Gros Michel (Tabela 4).

Tabela 2: Classificação de acessos de bananeira do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura, avaliados no primeiro experimento, quanto a resistência genética quando inoculados com o isolado padrão CNPMF080, raça 1 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Cruz das Almas, 2016.

Grupamento	Acessos de bananeira
Grupo 1 (Suscetíveis)	Pisang Pipit, Pisang Rojo Uter, Mambee thu, Gros Michel, AS
Grupo 2 (Resistentes)	Poyo, Birmanie, Pitua, Walebo, Imperial, PA Sonkla, Pisang Nangkla, Pisang Jarah, Pisang Berlin, 2803-1, Tjau Lagada mangana, Ambei

Entre os acessos, agrupados como resistentes, (grupo 2) houve variação de 0 a 306,66 para a AACPD com os menores valores obtidos nos acessos Birmanie, Pirua, Poyo, Walebo, Imperial, PA Songla e o maior valor em Pisang Nangka (Tabela 4). Independente do grupo, os acessos apresentaram diferentes períodos de incubação e número de plantas mortas. Como pode-se observar a maioria foram diploides selvagens, avaliados como indivíduos com boas características, em destaque resistência às doenças, por isso, importantes para o melhoramento genético, processo de geração de tetraploides resistente ao FOC raça 1 (AMORIM

et al., 2008; SILVA et al., 2013), Vale ressaltar que os diploides selvagens nem sempre são usados diretamente no melhoramento de triploides, antes disse passam por um processo de melhoramento que visa reunir em um único indivíduo uma série de características desejáveis (AMORIM et al., 2016).

Os genótipos SA (AA) e Gros Michel (AAA) apresentaram os maiores índices de AACPD e IDI (Tabela 4) demonstrando alta suscetibilidade ao *FOC* e agruparam-se com os acessos Pisang Pipit (AAA), Pisang Rojo Uter (AA), Mambee Thu (AAA). Foi possível observar que o genoma A nada tem a ver com o fato de o genótipo ser suscetível ou resistente.

Os menores períodos de incubação foram diretamente proporcionais aos valores da AACPD (Tabela 4). No entanto, isso não ocorreu para os índices internos da doença. Possivelmente, as características fenotípicas podem ser influenciadas por fatores como a nutrição da planta, alta temperatura e umidade. No entanto, esses fatores não transformam uma bananeira resistente em uma planta com elevada suscetibilidade ao patógeno (SILVA et al., 2016).

No segundo experimento houve a formação de dois grupos de acessos de acordo com o teste K-means. No grupo 1 estão os acessos suscetíveis ao *FOC*, enquanto no segundo grupo, estão os genótipos que se apresentaram como resistentes (Tabela 3). Pode-se observar no grupo 2 a presença de acessos que não apresentaram nenhum sintoma interno da doença, a exemplo do diplóide melhorado M53 (Tabela 4). Esse genótipo apresenta fonte de resistência para uso no melhoramento genético por apresentar genes que conferem resistência ao isolado CNPMF 0801 (raça 1). No Grupo 2 encontram-se genótipos de diferentes grupos genômicos, tais como Grande Naine P. Formoso, Pacovan, PA42-44 (BRS Platina) que apresentaram baixos índices internos da doença. Os genótipos, Grande Naine P. Formoso e Pisang Tongat apresentaram valores baixos de AACPD, mas com elevado período de incubação.

Tabela 3: Classificação de acessos de bananeira do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura, avaliados no segundo experimento, quanto a resistência genética, quando inoculados com o isolado padrão CNPMF080, raça 1 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*. Cruz das Almas, 2016.

Grupamento	Acessos de bananeira
Grupo 1 (Suscetíveis)	Prata Maceió, Fako Fako, Robusta, Prata Anã 2, <i>Musa ornata x velutina</i>
Grupo 2 (Resistentes)	Grande Naine P. Formoso, Malaccensis, Pisang Tongat, Figo Cinza, M61, Nanicão Magário RFR 1292, Buitenzorg, Tuu Gia, PA42-44, Nanica, PV03-76, Pacovan, Pisang, M53, Kongo FRF 1286, Markatooa

Tabela 4: Média do índice externo da doença (MIDE), índice Interno da doença (IDI), área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD), período de incubação (PI) e número de plantas mortas (PM) de 34 acessos de bananeira do Banco Ativo de Germoplasma inoculados com o isolado padrão CNPMF-0801. Cruz das Almas, 2016.

Acessos	IDI	AACPD	PI	PM
<i>Musa ornata x Musa velutina</i>	63,30	466,67	27	6
S.A	83,33	870,00	23	4
Pisang Rojo Uter	66,66	516,6	19	0
Pisang Berlin	5,00	48,3	61	0
2803-1	56,66	201,66	64	1
M53	0,00	0,00	0,00	0
Pisang jarah	20	288,33	61	0
Buitenzorg	26,6	73,33	37	1
Birmanie	6,66	0,00	0,00	0
Mambee Thu	86,66	986,66	21	4
Fako Fako	36,7	235	27	4
PA Songkla	6,66	0	0	0
Malaccensis	20	26,66	62	0
Pisang Tongat	43,3	6,66	62	0
Pisang Pipit	6,66	688,33	21	0
Tuu Gia	26,7	120	37	0
Pisang Nangka	23,33	306,66	40	1

Tjau Lagada	16,69	113,33	90	0
Mangana	12,00	26,66	90	0
Pirua	10,00	0,00	0,00	0
Imperial	3,33	0,00	0,00	0
Poyo	13,33	0,00	0,00	0
Ambei	10,00	0,00	0,00	0
Walebo	10,00	0,00	0,00	0
Gros Michel	96,66	1155	21	5
M-61	30	33,33	43	0
Nanica	13,3	80	27	0
Markatooa	26	1,66	0	2
Figue Rose Naine	86,6	90	33	0
Pisang Ustrali	50	133,33	27	2
Figo Cinza	46,66	8,30	0,00	2
Nanicação Magario FRF 1292	26	76,66	40	0
Robusta	63,3	40	21,8	1
Kongo FRF 1286	10	0,00	0,00	0
Prata Maceió	36,7	193,33	43	4
Prata Anã 2	86,7	186,66	27	5
Grande Naine P. Formoso	13,3	10	62	0
Pacovan	60	120	27	2
Prata Anã	90	108,33	33	4
PA 42-44	13,3	110	33	0
PV03-76	60	27	12,42	1

Os resultados indicam que os genótipos Grande Naine e Pisang Tongat são resistentes à raça 1 do FOC. Os demais genótipos do Grupo 2 apresentaram baixos valores de índice externo da doença (Tabela 2). Encontram-se ainda nesse grupo a subespécie malacencis pertencente a espécie *Musa acuminata*, juntamente com mais seis subespécies. Essa subespécie provavelmente, apresenta resistência quantitativa ou poligênica (horizontal), pois mostrou resistente a raça 1 e a raça 4 segundo o estudo de Li et al. (2015).

A resistência genética é considerada um meio eficiente e seguro para o controle de doenças de plantas. Por outro lado, a durabilidade dessa resistência

pode ser reduzida por variantes do patógeno induzidas pela pressão de seleção imposta sobre a população do patógeno. A resistência genética é uma característica herdável que pode ser gerada pela ação de poucos ou muitos genes e classificada em vertical ou horizontal. A resistência vertical gerada por um ou poucos genes é também conhecida como resistência a raça específica, resistência qualitativa, monogênica ou oligogênica, diferencial ou completa. Nesse tipo de resistência, fatores como a temperatura, umidade e pH do solo, não influenciam no fenômeno de resistência (VAN DER PLANK, 1963). É manifestada como resistência total ou suscetibilidade total dependendo da interação com a raça do patógeno (MIZUBUTI E MAFIA, 2006). Já a resistência horizontal é governada por vários genes de efeito menor e é considerada não diferencial e incompleta (VAN DER PLANK, 1963). Nesse tipo de resistência é possível quantificar vários níveis da doença e há interações com várias raças. O *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense* apresenta diferentes raças fisiológicas o que implica na necessidade de diversas categorias de resistência genética.

O conhecimento do funcionamento das variações genéticas e como estas influenciam o fenótipo dos indivíduos, contribuem para estratégias de seleção e posterior cruzamentos de indivíduos promissores.

CONCLUSÃO

Há variabilidade genética disponível entre os acessos do Banco de Germoplasma de Bananeira para resistência ao *FOC*, com destaque para o genótipo M53, que não apresentou sintomas do mal do Panamá e os acessos Birmanie, PA Songkla, Pirua, Imperial, Poyo, Ambei, Walebo e Kongo FRF 1286 que exibiram baixos índices internos da doença.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 4 ed., 963 p., 1997.

AMORIM, E. P.; REIS, R. V.; SANTOS-SEREJO, J. A.; AMORIM, V. B. O.; SILVA, S. O. Variabilidade genética estimada entre diplóides de banana por meio de marcadores microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, p. 1045-1052, 2008.

BUTLER, D. Fungus threatens top banana. **Nature**, v. 504, p.195–196, 2013.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: Wiley, 1990. 532p.

CORDEIRO, Z. J. M.; SHEPHERD, K.; SOARES FILHO, W.S; DANTAS, J.L.L. Avaliação de resistência ao mal do Panamá em híbridos tetraploides de bananeira. **Fitopatologia Brasileira**, v.18, p.478-483, 1993.

FAOSTAT 2016: Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>.

FALCONER, D. S.; REGO F.; COSTA R.; RONDELLI A.; R.; MORENO K., KUMIMOTO H. Introdução à genética quantitativa. Variabilidade genética e estimativas de herdabilidade para o caráter germinação em matrizes de *Albizia lebbek*. **Ciência Rural**, v.35, n.5, p.1209-1212.

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

LESSA, L. S.; LEDO, C. A. S.; AMORIM, E. P.; SILVA, S. O. Estimativas de repetibilidade de híbridos diploides (AA) de bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, p. 109-117. 2014.

LI, W. M.; DITA M.; WU W.; HU G. B.; XIE J. H.; GE X. J. Resistance sources to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 in banana wild relatives. **Plant Pathology**, v. 6, p. 1-10, 2015.

McKINNEY, R.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, v.6, p.195-218, 1923.

MOHAMMED, Early evaluation of banana plants at nursery stage for fusarium wilt tolerance. Proceedings of the International Workshop on the Banana Fusarium Wilt Disease held at Genting Highlands, Malaysia, October 1999.

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

PLOETZ, R. C. Fusarium Wilt of Banana. **Phytopathology**. 2015.

REIS, R. V.; AMORIM, E. P.; LEDO, C. A. S.; PESTANA, R. K. N.; GONCALVES, Z. S.; BOREN, A. Selection of putative Terra Maranhão plantain cultivar mutants obtained by gamma radiation. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, p. 4687-4695, 2015.

RIBEIRO L. R.; AMORIM E. P.; CORDEIRO Z. J. M.; SILVA, S. O; DITA M. A. Discrimination of banana genotypes for Fusarium wilt resistance in greenhouse. **Acta Horticulturae** v. 897, p. 381–385, 2011.

RIBEIRO, L. R.; SANTOS, L. A.; SILVA, S. O.; BRAGANÇA, C. A. D.; AMORIM, E. P.; HADDAD, F.. Teste de agressividade de haplótipos de *Fusarium oxysporum* f sp *cubense* oriundos de regiões produtoras. In: III Simpósio Internacional de Fruticultura - pragas quarentenárias e melhoramento preventivo, 2015, Salvador.

R CORE TEAM R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Available at: <http://www.R-project.org>. 2014.

SHEW, H. D.; SHEW, B.B. Host resistance. In: Campbell, C.L. & Benson, D.M. **Epidemiology and management of root diseases**. p. 244–275, 1994.

SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A.; BORGES, A. L. Cultivares. In: FERREIRA, C. F.; SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A. **O agronegócio da banana**. Embrapa: Brasília. p.137-170, 2016.

SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO J. A.; FERREIRA, C. F.; RODRIGUES, M. A. D. Melhoramento genético da bananeira: estratégias e tecnologias disponíveis. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 3, p. 919-931, 2013.

VAN DER PLANK, J. E. **Plant disease**: Epidemics and control. New York: Academic, 1963. 349 p.

CAPÍTULO 3

VIRULÊNCIA E AGRESSIVIDADE DE ISOLADOS DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* NAS CULTIVARES GRANDE NAINÉ, MAÇÃ E BRS PLATINA

VIRULÊNCIA E AGRESSIVIDADE DE ISOLADOS DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* NAS CULTIVARES GRANDE NAINÉ, MAÇÃ E BRS PLATINA

RESUMO – A utilização de cultivares de bananeiras resistentes é o método mais eficaz para o controle da murcha de *Fusarium* ou mal do Panamá da bananeira. A doença é causada por um fungo habitante de solo, o *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC) de elevado potencial evolutivo com três raças fisiológicas. A maior preocupação hoje, dos pesquisadores brasileiros é a possibilidade do aparecimento de variantes de FOC no país. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a virulência e agressividade de populações de FOC oriunda de São Paulo e Santa Catarina nas cultivares Grande Nainé, Maçã e BRS Platina. Isolados monospóricos do fungo foram obtidos a partir de bananeiras com sintomas do mal do Panamá. Foram utilizados 46 isolados de FOC na concentração de 1×10^5 microconídios mL⁻¹ em mudas de bananeiras das cultivares estudadas. As plantas foram avaliadas durante 45 dias observando a descoloração do rizoma usando-se a escala de Cordeiro et al. (1993). Os dados foram transformados em índice de doença e analisados no Programa Computacional R. Observou a existência de isolados patogênicos na cultivar Grande Nainé considerada resistente ao mal do Panamá. Os isolados 2014.262C, 2014.244B, 2014.217B, 2014.301C, 2014.228C, 25014.290A, 2014.236A, 2014.220A, 2014.229A se destacaram por apresentar virulência quando inoculados nas cultivares Maçã, Grande Nainé e Platina.

PALAVRAS CHAVE: Murcha de *Fusarium*, bananeira, virulência, casa de vegetação.

VIRULENCE AND AGRESSIVENESS OF *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* ISOLATEDES IN THE GRANDE NAINÉ, MAÇÃ AND BRS PLATINA BANANA CULTIVARS.

ABSTRACT - The utilization of resistant banana cultivars is the most efficient method to control Fusarium Wilt, or Panama Disease in banana plantations nowadays. The causal agent is a fungus that inhabits the soil, the *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC), which has an elevated evolving potential and three physiological races. The biggest issue for the Brazilian researchers is the possibility of a new FOC strain in the country. The main purpose of this study was to evaluate the virulence and aggressiveness in FOC populations from São Paulo and Santa Catarina in the cultivars Grande Naine, Maçã e BRS Platina. Monosporic isolates of the fungus were obtained from banana plants with the Panama Disease symptoms. Around 46 isolates of FOC were used in a 1X10 micronídios mL in small plants of banana of the selected cultivars. The plants were evaluated for 45 days, in which it was observed the de-coloration of rizom using the Cordeiro Scale (1999). The data were transformed in an index of the disease and analyzed in the Computer Programming R. Pathogenic isolates were found in the cultivar Grande Naine in the South of the country. The isolates..stood out for presenting virulence when inoculated in the cultivars Maçã, Grande Naine e Platina.

Key Words: Fusarium Wilt, banana plants, virulence.

INTRODUÇÃO

O mal do Panamá é uma doença severa, que afeta diferentes variedades de bananeira em todo o mundo (PLOETZ et al., 2015). A medida mais indicada para o controle dessa doença é a utilização de cultivares resistentes. Entretanto, a variabilidade do agente causal dificulta o trabalho dos melhoristas e fitopatologistas, na seleção de variedades resistentes e no manejo da doença no país. Para o conhecimento do patógeno, uma das etapas consiste na quantificação da doença em populações de bananeira.

O mal do Panamá é causado pelo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC) do qual são conhecidas três raças, a 1, 2 e a raça 4 (FOURIE et al., 2011; PLOETZ et al. 2015). A raça 1 de FOC é responsável por infectar a cultivar Gros Michel e híbridos relacionados (FOURIE et al., 2011), a raça 2 infecta a cultivar Blugoe e a raça 4 infecta diversos genótipos entre eles as cultivares afetadas pelas raças 1 e 2 e as cultivares do Grupo Cavendish (FOURIE et al., 2011). Apesar da divisão em três raças, essas não diferem em relação às características morfológicas ou sintomatológicas. Dentro do conceito de raça fisiológica, podem-se observar ainda diferentes patótipos, assim, possíveis surgimentos de novas raças podem ocorrer considerando alta variabilidade da espécie. Com base nisso é importante chamar a atenção para patógenos de outras formas *specialis* do gênero *Fusarium* que também podem ocasionar infecção em bananeira (SIDIQUE, et al., 2008; WANG et al., 2015).

A distribuição do agente causal do mal do Panamá ocorre em escala mundial, em diferentes plantas hospedeiras. Observa-se aumento da virulência da doença, alta variabilidade genética, falta de conhecimento dos patótipos virulentos e quebra de resistência de algumas cultivares resistentes (FOURIE et al., 2011, QI et al., 2013). Recentemente, alguns genes associados com a virulência foram caracterizados em FOC, incluindo FOATF1, FOOCH1 e três genes de proteínas quinase, FOSLT2, FOMKK2 E FOBCK1. Entre esses genes, o fator de transcrição FOATF1 está envolvido na regulação da virulência através da resposta ao estresse em bananeiras Cavendish (QI et al., 2013).

A utilização de cultivares resistentes é a principal medida de controle da doença no Brasil, como ocorreu em 1965 com a substituição da cultivar Gros Michel

por cultivares do subgrupo Cavendish (STOVER, 1972). No entanto, as cultivares resistentes avaliadas no Brasil só apresentam resistência às raças 1 e 2 de FOC (SILVA et al., 2016).

Para o desenvolvimento de cultivares resistentes faz-se necessária a quantificação inicial da doença por meio de observação da manifestação dos sintomas na hospedeira com a infecção pelo agente causal. O diagnóstico é realizado por escala de notas onde se avaliam os parâmetros de incidência e severidade na planta, e, virulência e agressividade no patógeno.

As bananeiras do grupo Cavendish são resistentes às raças 1 e 2 e suscetível à raça 4 do FOC, que não ocorre no Brasil. Entretanto, plantas dessas cultivares vem apresentando sintomas do mal do Panamá em bananais na Região Sul do Brasil (SILVA et al., 2010; SANTOS et al., 2011). Vale ressaltar que os sintomas estão ocorrendo em regiões mais frias e propensas à inundação. Dessa forma pode-se concluir que o ambiente pode afetar a incidência da doença, uma vez que o crescimento e a suscetibilidade do hospedeiro, bem como, a esporulação, a distância de disseminação do patógeno, a taxa de germinação dos esporos e a penetração são afetadas pelas condições ambientais (BERGAMIM FILHO et al., 1995). Temperaturas muito altas ou muito baixas em relação à faixa ótima de temperatura para a planta podem reduzir o nível de resistência do hospedeiro (SILVA et al., 2016). Plantas sob essas condições tornam-se predispostas à doença, uma vez que o patógeno permanece vigoroso e mais forte que o hospedeiro. Em baixas temperaturas há redução da absorção de nutrientes e, conseqüentemente, subdesenvolvimento da planta, facilitando a ação de patógenos (SILVA et al., 2016). Além da temperatura, a qualidade e quantidade de luz disponível ao hospedeiro afeta a reação da planta a uma determinada doença.

Na interação entre o *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* e a bananeira diversos genes são expressos, os quais estão envolvidos na síntese de enzimas de degradação da parede celular do hospedeiro e estruturas de infecção, que dependem da sensibilidade do hospedeiro e das variações do ambiente (YAMAMOTO et al., 2000; WROBEL-KWIATKOWSKA, et al., 2004). Com a infecção e colonização, o FOC retira os nutrientes necessários para a sua sobrevivência e neutraliza as reações de defesa da planta através da utilização de enzimas e outras

toxinas, que ocasionam o processo responsável pela patogênese (PASCHOLATI, 1995; BUENO et al., 2009; QI et al., 2013) na bananeira.

Em face do aumento da população de isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* nas regiões Sul e Sudeste, o principal objetivo do presente estudo foi analisar a incidência e a severidade do patógeno nas cultivares Grande Naine, Maçã e BRS Platina e avaliar a virulência e a agressividade de uma população de FOC.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Fitopatologia e casa de vegetação da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Foram utilizados 46 isolados de FOC, obtidos de bananeira com sintomas do mal do Panamá (Tabela 1).

Tabela 1: Isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* retirados de bananeiras tipos Prata e Cavendish. Cruz das Almas - BA, 2016.

Isolado	Local de isolamento	Variedade
2014.244B	São Paulo	Prata
2014.262C	São Paulo	Nanica
2014.206A	São Paulo	Prata Padoth
2014.218A	São Paulo	Nanica
2014.306B	Santa Catarina	Cavendish
2014.231A	São Paulo	Prata
2014.241C	São Paulo	Prata
2014.238A	São Paulo	Nanica
2014.251C	São Paulo	Prata Catarina
2014.307A	Santa Catarina	Prata
2014.217B	São Paulo	Nanica
2014.301C	Santa Catarina	Prata Anã
2014.228C	São Paulo	Prata
2013.186A	Santa Catarina	Prata Catarina
2014.300A	Santa Catarina	Cavendish
2014.290A	Santa Catarina	Prata

2014.255B	São Paulo	Prata Catarina
2014.209A	São Paulo	Nanica
2013.161A	Santa Catarina	Nanicão
2014.236A	São Paulo	Prata
2013.172A	Santa Catarina	Nanicão
2013.197A	São Paulo	Prata
2014.248C	São Paulo	Prata
2014.221A	São Paulo	Prata
2014.220A	São Paulo	Prata
2014.212A	São Paulo	Prata Zulú
2014.175C	Santa Catarina	Nanica
2014.179A	Cruz das Almas	Yangambi
2014.229A	São Paulo	Prata
2014.282A	São Paulo	Prata
2014.270A	São Paulo	Nanicão
2014.192B	Santa Catarina	Cavendish
2014.287B	Santa Catarina	Prata
2014.227A	São Paulo	Prata
2014.194B	São Paulo	Prata
2014.240B	São Paulo	Prata
2013.173B	Santa Catarina	Nanicão
2014.261A	São Paulo	Prata
CNPMF0801	Cruz das Almas	Maçã
2014.226B	São Paulo	Prata
2014.308A	Rio Grande do Sul	Nanica
2013.187A	Santa Catarina	Nanica
2014.260B	São Paulo	Prata
2014.258B	São Paulo	Prata
2013.165B	Santa Catarina	Nanicão
2014.259C	São Paulo	Prata

Fragmentos de tecidos da bananeira infectados foram cortados da planta desinfestado com hipoclorito de sódio a 0,5% por um minuto com três lavagens em água destilada e esterilizadas, transferidas para placas de Petri com meio de batata-

dextrose-água (BDA) e incubadas em BOD a 25 °C. Foram assim obtidas culturas monospóricas, que foram preservadas pelo Método Castelane.

Foi utilizado o método de inoculação com substrato colonizado por FOC (SFA). Para produzir o substrato foi utilizado areia lavada e fubá de milho (5:1) com adição de 150 mL de água destilada. A mistura foi adicionada em sacos plásticos esterilizados em autoclave com temperatura de 120 °C por 20 min. Discos de micélio foram transferidos para o substrato, que foram incubados em câmara de crescimento a 25 °C por 15 dias. Foram realizadas diluições seriadas para a quantificação das colônias no substrato e o inóculo foi ajustado para 10^6 unidades formadoras de colônia (UFC) grama⁻¹ de substrato. Amostras de 10 g/orifício foram colocadas no solo ao redor das mudas. O controle constou dos genótipos inoculados com o substrato sem o patógeno.

O delineamento usado foi o inteiramente casualizado, com oito repetições. O período de incubação (PI) foi considerado como o tempo decorrido entre a inoculação e o aparecimento de sintomas em 50 % das plantas. A partir do aparecimento dos sintomas externos, a severidade da doença foi avaliada, em intervalos de três dias, até 45 dias depois da inoculação, segundo escala de Mohamed et al. (1999) modificada, na qual: 1: sem sintomas; 2: amarelecimento inicial em folhas velhas; 3: amarelecimento de folhas velhas com descoloração inicial em folhas jovens; 4: todas as folhas com intenso amarelecimento; 5: planta morta. Aos 45 dias depois da inoculação, as plantas foram removidas do substrato e avaliadas quanto à descoloração do rizoma, segundo escala de notas de Cordeiro et al. (1993), em que: 1: ausência de sintomas; 2: pontos isolados de infecção; 3: descoloração de até 1/3 do anel formado pela região de origem das raízes; 4: descoloração entre 1/3 e 2/3 do anel; 5: descoloração acima de 2/3 do anel e 6: total descoloração do rizoma. Foram quantificadas as variáveis, incidência e severidade da doença nas bananeiras e virulência e agressividade das populações de FOC.

Foram calculados os índices da doença (ID), para sintomas internos (IDI), utilizando a fórmula de McKinney's (MCKINNEY, 1923), onde $ID (\%) = 100 \cdot \sum[(f \cdot v) / (n \cdot x)]$, sendo ID: índice de doença; f: número de plantas com a mesma nota; v: nota observada; n: número total de plantas avaliadas e x : nota máxima da escala. As análises foram feitas com o uso do programa R versão 3.1.3.0 (R

DEVELOPMENT CORE TEAM, 2008). Para o teste de intensidade da doença nas cultivares e virulência do patógeno foi realizado o agrupamento dos isolados para as variáveis, incidência da doença e sua severidade e virulência do patógeno e o agrupamento foi feito utilizando componentes principais para a variável agressividade dos isolados de FOC.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se sintomas da doença na cultivar Grande Naine considerada resistente as raças 1 e 2 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. A virulência é definida como diferentes graus de patogenicidade ou capacidade do patógeno de causar danos em uma espécie. Foi possível constatar a existência de isolados de FOC patogênicos a bananeira do grupo Cavendish na região Sul e Sudeste do Brasil (Figuras 1 e 2).

Alguns isolados apresentaram-se patogênicos para a Grande Naine, Maçã e BRS Platina, mostraram variações de virulência dependendo da cultivar. Fatores como condições climáticas, o estágio de desenvolvimento do patógeno e do hospedeiro, temperatura e umidade favorecem a virulência. Além desses fatores, o plantio de cultivares Cavendish nessas regiões pode ter contribuído para o surgimento de novas variantes do patógeno, devido provavelmente a pressão de seleção exercida pelas plantas hospedeiras geneticamente uniformes, principalmente em relação a genes associados com a resistência ao mal do Panamá.

A estimativa da quantificação da doença é feita por métodos diretos de avaliação com expressão dos sintomas na hospedeira, enquanto a intensidade da doença compreende as variáveis, incidência e severidade da doença. A incidência está diretamente relacionada com severidade de FOC, sendo que a primeira refere-se ao maior número de novos casos surgidos numa determinada população em um determinado intervalo de tempo enquanto a segunda indica a área do tecido lesionado pelo FOC.

Houve variação na incidência da doença nas três cultivares analisadas (Figura 1). Na cultivar Maçã foi possível visualizar os maiores valores de incidência, que alcançou 80% (2014.290A, 2014.262C, 2014.220A, 2014.217B, 2014.244B, 2014.228C, 2014.301C, 2014.236A, 2013.172A, 2013.161A, 2014.248C, 2014.221A,

2014.282A, 2014.270A, 2014.226B, 2014.194B, 2014.258B, 2014.175C 2014.231A, 2014.227A, 2014.261A, 2014.306B). No entanto, observou-se um grupo de isolados que não apresentaram incidência da doença nas cultivares Maçã e Platina, 2014.218A, 2014.240B, 2014.238A, 2014.259C, 2014.287B, 2014.187A, 2014.308A, 2014.251C, 2014.194B, 2014.307A, porém apresentaram incidência na cultivar Grande Naine. Um grupo de isolados apresentou na cultivar Grande Naine, porcentagem de incidência que variou de 30% a 73% do isolado 2014.240B. Apesar da elevada incidência nessa cultivar, o isolado não causou sintomas da doença na cultivar Maçã, embora ela seja suscetíveis ao mal do panamá.

Vale ressaltar que a 'BRS Platina' se destacou em relação à resistência por apresentar elevado número de plantas que não apresentaram incidência da doença e a incidência na cultivar Grande Naine considerada resistente.

O estado nutricional da bananeira e os atributos químicos e físicos do genótipo são características importantes quando se avalia a incidência da doença do mal do panamá (BOLFARINI et al., 2015). Silva et al. (2013) ao relacionar o estado nutricional da bananeira 'Prata-Anã' com a incidência do mal do panamá observaram que o aumento das doses de potássio promoveu melhor equilíbrio nutricional à bananeira e reduziu a porcentagem de plantas infectadas com a doença. A utilização de solos supressivos é uma forma de controle, embora não eficiente, do mal do panamá, no entanto, deve-se aliar a isso a utilização de cultivares mais resistentes.

Durante a coleta dos isolados, foi observado incidência do mal do panamá em cultivares Cavendish nos estados do Sul e Sudeste. Esse fato foi também relatado em trabalhos realizados por SILVA et al. (2010) ao estudar a diversidade genética de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

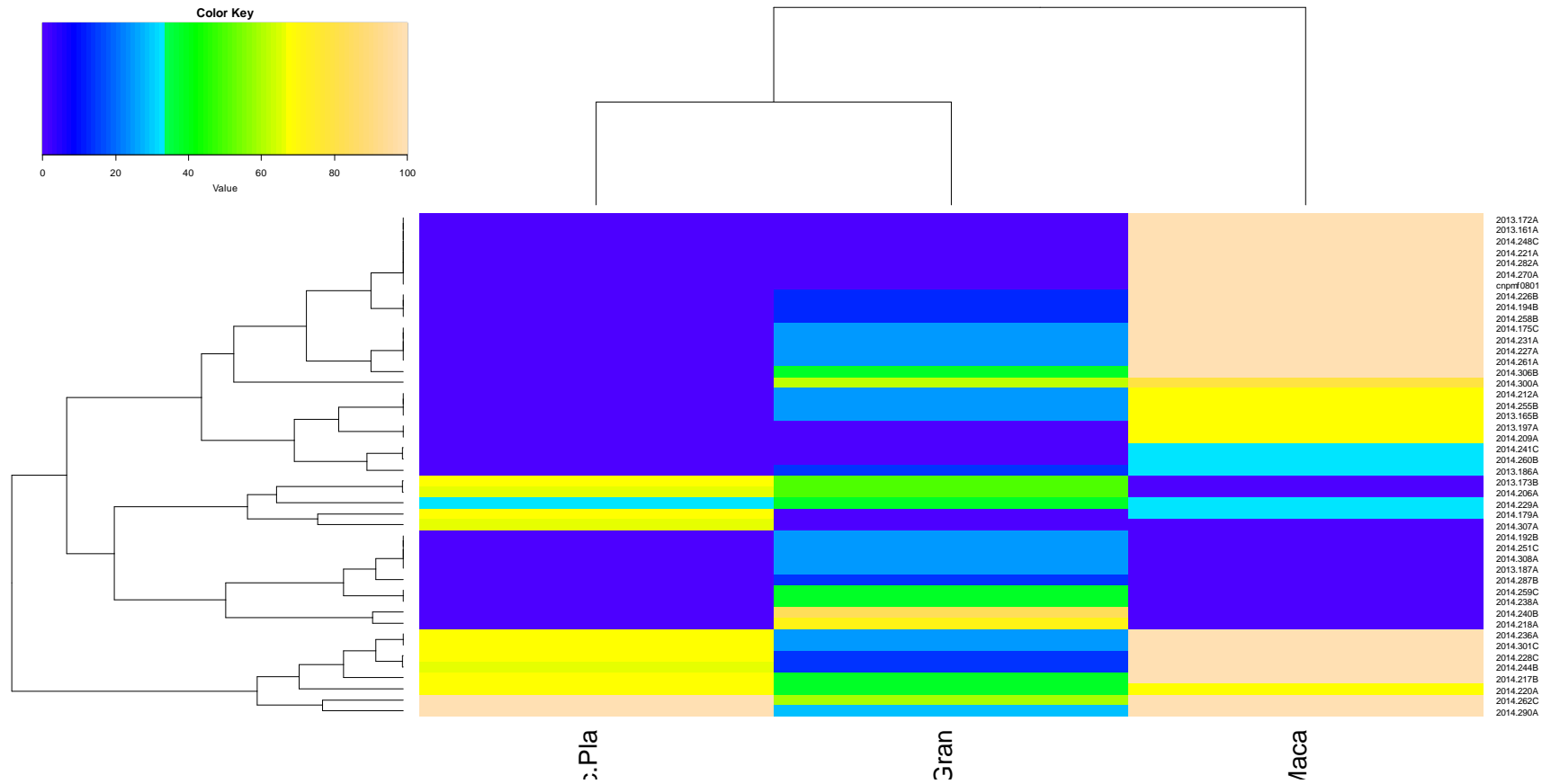


Figura 1: Incidência dos sintomas causados por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* em nas cultivares Grande Naine, BRS Platina e Maçã. A cor azul escura indica baixa incidência e as cores claras indicam alta incidência da doença do mal do Panamá.

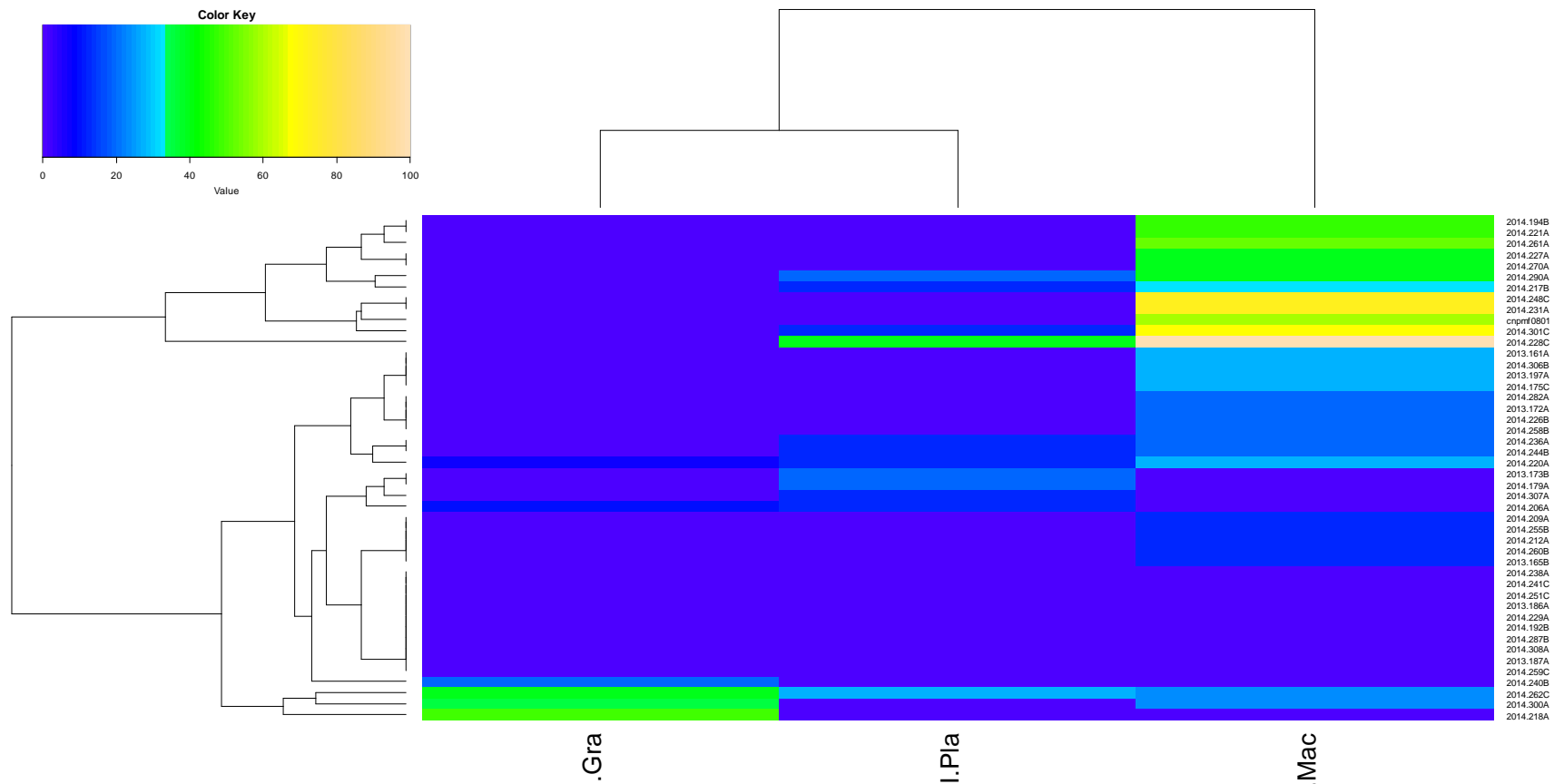


Figura 2: Severidade da doença do mal do panamá nas cultivares Grande Naine, Platina e 'Maçã com isolados de *Fusarium oxysporum f. sp. cubense*.

Na figura 2, pode ser vista a severidade da doença do mal do Panamá nas cultivares Maçã, Grande Naine e BRS Platina. O Índice de severidade da doença expressa o dano real causado pelos isolados de FOC. Como era de se esperar os maiores Índices de Severidade foram observados na cultivar Maçã, suscetível ao mal do Panamá, enquanto na cultivar Grande Naine a severidade não ultrapassou 50%. Os isolados que apresentaram as maiores médias de severidade na 'Grande Naine' foram 2014.262C, 2014.300A e 2014.218A, obtidos em plantas de Cavendish, em diferentes locais (Tabela 1). Por outro lado, os isolados 2014.220A e 2014.307A, coletados em Santa Catarina e São Paulo na cultivar Prata, não apresentaram qualquer índice de severidade da doença na Grande Naine.

No primeiro grupo estão os patótipos que expressaram sintomas em todas as cultivares sendo capazes de suprimir ou neutralizar a ação dos genes de defesa das três cultivares. Nos outros grupos foram observados isolados que apresentaram sintomas na 'Grande Naine' e 'Platina', isolados que infectaram apenas a Grande Naine, isolados com sintomas apenas na Maçã, grupo de isolados que exibiram sintomas apenas na Platina, sintomas na Maçã e Grande Naine e por fim grupo de isolados que infectaram a Maçã e a Platina (Figura 3). As cultivares analisadas apresentam diferentes graus de resistência ao FOC, o que pode ser compreendido como o grande número de compostos responsáveis pela defesa da bananeira, como as tiloses e géis presentes no xilema de genótipos mais resistentes como na 'Grande Naine'. O aumento da complexidade do agente causal é demonstrado com a alta variabilidade genética do patógeno associado a diferentes cultivares e agora com infecção em bananeiras resistentes. É importante ressaltar que os fatores externos podem contribuir para uma maior variação em genótipos resistentes. Entre os fatores que contribuem para ocorrência da doença estão, a temperatura, umidade relativa, presença de nematóides e estresse nutricional.

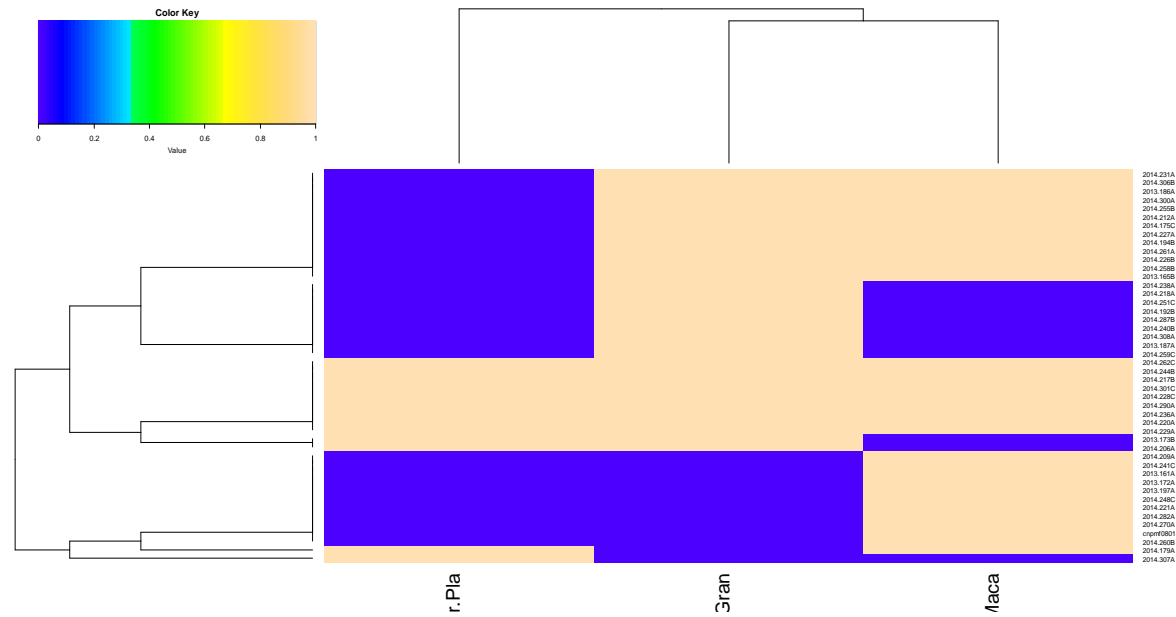


Figura 3: Virulência de isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* em bananeiras 'BRS Platina', 'Grande Naine' e 'Maçã'. A cor azul indica que o fungo foi avirulento enquanto a cor creme indica virulência nas cultivares de bananeiras.

O nível de agressividade calculado pelo Programa computacional R utilizando o método de agrupamento k-Means é apresentado na Figura 4. Os 46 isolados foram agrupados em três grupos. No grupo 1, estão os isolados que apresentaram menor agressividade nas três cultivares analisadas. No Grupo 2 classificaram os isolados de agressividade intermediária e os isolados do Grupamento 3 foram os mais agressivos. A agressividade é utilizada para descrever as diferenças em relação ao patógeno de uma mesma população, em plantas que apresentam resistência horizontal (VANDERPLANK, 2005) e está associada à velocidade no aparecimento dos sintomas da doença, ou seja, quanto mais agressivo for determinado isolado, mais rápido será o aparecimento dos sintomas. Enquanto a virulência está associada à quantidade de doença causada no hospedeiro, ou seja, quanto maior a intensidade da doença, mais virulento o isolado. Em outra abordagem quanto aos níveis de virulência e agressividade, Vanderplank (1963) propôs que raças virulentas de um patógeno são aquelas capazes de infectar uma ou mais variedades de um mesmo hospedeiro, mas não todas. Um patógeno tem raças agressivas quando tem capacidade de infectar todas as variedades de um mesmo hospedeiro, variando apenas quanto ao grau de patogenicidade (VANDERPLANK, 1963).

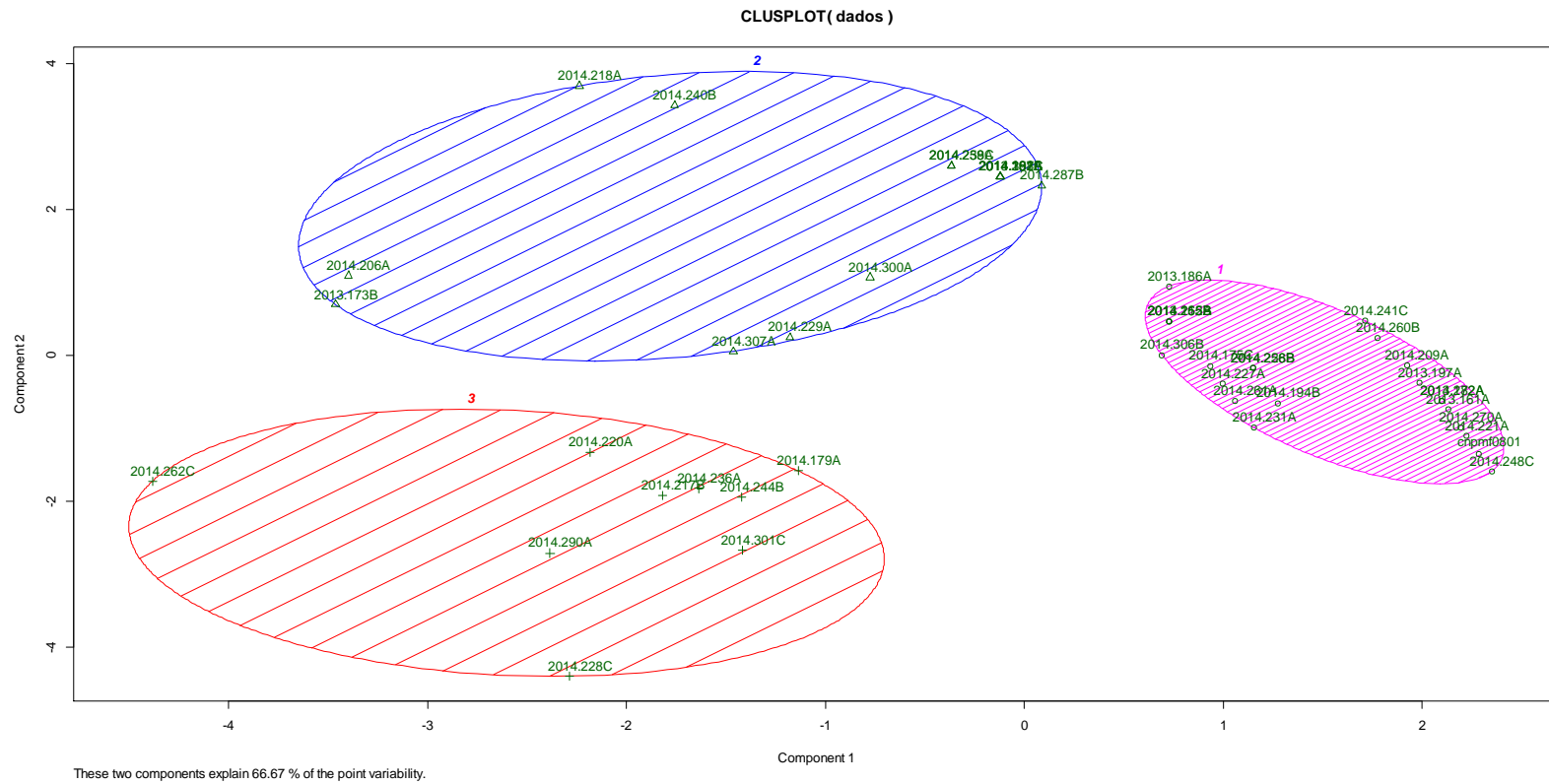


Figura 4: Agrupamento de isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* quanto à agressividade nas cultivares Maçã, Grande Naine e Platina.

CONCLUSÃO

Observou a existência de isolados patogênicos na cultivar Grande Naine no Sul do país. Os isolados 2014.262C, 2014.244B, 2014.217B, 2014.301C, 2014.228C, 25014.290A, 2014.236A, 2014.220A, 2014.229A se destacaram por apresentar virulência quando inoculados nas cultivares Maçã, Grande Naine e Platina. Enquanto que isolados 2014.307A, 2013.192B, 2014.251C, 2014.306A, 2013.187A, 2014.287B, 2014.259C, 2014.238A, 2014.240B, 2014.218A, 2013.173B, 2014.206A não apresentaram sintomas do mal do Panamá na cultivar Maçã.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIN, L. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo; Editora Agronômica Ceres, 1996. p. 79–97.

BRUENO, C. J.; FISCHER, I. H.; ROSA D. D.; Furtado, E. L.. Production of extracellular enzymes by *Fusarium solani* from yellow passion fruit. **Tropical Plant Pathology**, v.34, n. 5, p.343-346, 2009.

BOLFARINI, A. C. B.; LEONEL S.; LEONEL M.; FERREIRA R. B.; SILVA M. S. Incidência do “mal do Panamá” e aspectos nutricionais da bananeira Maçã, cultivada sob doses de fósforo. **Revista Amidos e Raízes Tropicais**, v. 11, nº 1, p. 33-45, 2015.

CORDEIRO, Z. J. M.; SHEPHERD, K.; SOARES FILHO, W.S; DANTAS, J.L.L. Avaliação de resistência ao mal do Panamá em híbridos tetraploides de bananeira. **Fitopatologia Brasileira**, v.18, p.478-483, 1993.

FOURIE, G.; STEENKAMP, E. T.; PLOETZ, R. C.; GORDON, T. R., VILJOEN, A. Biology and evolution of *Fusarium oxysporum*, with specific reference to the banana wilt pathogen. **Infection, Genetics and Evolution**, v.11, p. 533-542, 2011.

FOURIE, G.; STEENKAMP, E.T.; PLOETZ, R. C.; GORDON, T. R.; VILJOEN, A. Current status of the taxonomic position of *Fusarium* formae specialis *cubense* within

the *Fusarium oxysporum* complex. **Infection, Genetics and Evolution**, v.11, p. 533-542, 2011.

McKINNEY, R.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, v.6, p.195-218, 1923.

PASCHOLATI SF (1995) Fitopatógenos: arsenal enzimático. In: BERGAMIN FILHO A, KIMATI H, AMORIM L (Eds.) **Manual de fitopatologia**. Princípios e conceitos 3a. Ed. São Paulo. Ceres. v.1,p. 343-364.

PLOETZ, R. C. *Fusarium* Wilt of Banana. **Phytopathology**. 2015.

R CORE TEAM R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Disponível: <http://www.R-project.org>. 2014.

SIDIQUE, S. N.; ZAINUDDIN, N. A. I.; ABDUL R., A.; SALLEH, B. Distribution, morphological characterization and pathogenicity of *Fusarium sacchari* associated with pokkah boeng disease of sugarcane in peninsular Malaysia, **Journal of Tropical Agricultural Science**, v. 31, n. 2, p. 279-286, 2008.

SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO J. A.; FERREIRA, C. F. RODRIGUES; M. A. D. Melhoramento genético da bananeira: estratégias e tecnologias disponíveis. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 3, p. 919-931, 2013.

SILVA, C. M.; HINZ, R. H.; STADNIK, M. J.; PEREIRA, A.; TCACENCO, F. A. Diversidade genética por marcadores moleculares em *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* no Estado de Santa Catarina. **Ciência Rural**, v.40, p. 2480-2485, 2010.

SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A.; BORGES, A. L. Cultivares. In: FERREIRA, C. F.; SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A. **O agronegócio da banana**. Embrapa: Brasília. p.137-170, 2016.

STOVER, R. H. Banana, Plantain and Abaca Diseases. **Common wealth Mycological Institute**, Kew, UK. 1972.

WANG, Z.; JIA, C.; LI, J.; HUANG, S.; XU, B.; JIN, Z. Activation of salicylic acid metabolism and signal transduction can enhance resistance to Fusarium wilt in banana (*Musa acuminata* L. AAA group, cv. Cavendish). **Functional & Integrative Genomics**, v.15, p. 47-62, 2015.

WROBEL-KWIATKOWSKA, M., LORENC-KUKULA, K, STARZYCKI M.. Expression of α -1, 3-glucanase in flax causes increased resistance to fungi. **Physiology Molecular Plant Pathology**, v. 65, p. 245–256, 2004.

QI, X.; GUO, L.; YANG, L.; HUANG J.; FOATF1, transcription factor of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, is involved in pathogenesis by regulating the oxidative stress responses of Cavendish banana (*Musa* spp.), **Physiology Molecular Plant Pathology** v.84, p. 76 -85, 2013.

YAMAMOTO T.; IKETANI H.; IEKI H. Transgenic grapevine plants expressing a rice chitinase with enhanced resistance to fungal pathogens. **Plant Cell**, v. 19, p.639–646, 2000.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O agronegócio da banana apresenta considerável expressão econômica e elevado alcance social no Brasil. O país responde como principal consumidor *in natura* da fruta, com diferentes variedades de bananeiras para atender a demanda dos produtores e consumidores. A maioria das cultivares se mostram suscetíveis ao mal do Panamá. A cultivar Cavendish encontra-se ameaçada em relação a sua falta de resistência à TR4 e a existência de variantes de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, preocupa os melhoristas e fitopatologistas, envolvidos no controle da doença.

O principal objetivo do trabalho foi estudar populações de FOC em bananeiras. Foi utilizada a inoculação por suspensão de conídios pelo método de imersão de raízes de bananeira das cultivares Maçã, Pacovan, Princesa e Prata Anã. Foram utilizadas escalas descritivas para avaliação dos sintomas externos e internos. Os resultados observados classificaram os haplótipos de FOC 2011.21B, 2011.36A, 2011.34B, 2011.41B, 2011.120B, 2011.41A, 2011.06A, 2011.31B, 2011.140A, 2011.110A, 2011.97C, 2011.99B, 2011.127A, 2011.113A, 2011.140A, 2011.69A, 2011.111A, 2011.104A, 2011.115A, 2011.101B, 2011.12B, 2011.33A, 2011.61A, 2011.34A, 2011.107A como muito agressivos nas cultivares suscetíveis de bananeira analisadas, podendo ser utilizados em Programas de Melhoramento para testar bananeira quanto a resistência genética. Os isolados que apresentaram agressividade mediana foram 2011.23B, 2011.40B, 2011.42B, 2011.124A, 2011.100A, 2011.51A, CNPMF0801, 2011.78A, 2011.82B, 2011.32A, 2011.121A, 2011.27A, 2011.72B, 2011.94A, 2011.22A, 2011.55A, 2011.70B, 2011.119B, 2011.108B, 2011.44B, 2011.100B, 2011.74A, 2011.25C, 2011.46A, 2011.17B, 2011.37A, 2011.14A, 2011.142A, 2011.135A, 2011.77A, 2011.70A, 2011.120A, 2011.101A, 2011.112B, 2011.103C, 2011.139B, 2011.122B, 2011.52A, 2011.54B, 2011.40A, 2011.122A, 2011.23A, 2011.16A, 2011.50A, 2011.68A, 2011.79A, 2011.96A, 2011.91A, 2011.112A, 2011.21C. Já os isolados 2011.71A, 2011.14A, 2011.139A, 2011.139B, 2011.18B, 2011.73C, 2011.83A, 2011.116B, 2011.15B, 2011.30B, 2011.90A, 2011.52B, 2011.114A, 2011.07A, 2011.109A, 2011.148B, 2011.88C apresentaram baixa agressividade nas cultivares analisadas.

Com o objetivo identificar fontes de resistência genética ao *FOC* de acessos do Banco de Germoplasma de Bananeira da Embrapa. Foram analisados os sintomas externos e internos da doença em bananeira por meio de escalas descritivas. Os acessos Birmanie, PA Songkla, Pirua, Imperial, Poyo, Ambei, Walebo e Kongo FRF 1286 quando inoculados com o *FOC* CNPMF0801 apresentaram-se como resistentes. O acesso M53 não apresentou nenhum sintoma da doença, confirmando a sua resistência genética, sendo, portanto, um genótipo utilizado como parental em cruzamentos para obtenção de cultivares resistentes à essa doença.

Com objetivo avaliar a virulência de isolados de *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* oriundos de bananeira Cavendish e Prata nas cultivares Grande Naine, Maçã e Platina. Os sintomas internos da doença foram avaliados aos 45 dias após a inoculação de *FOC*. Foi possível observar a formação de três grupos de virulência, os isolados 2014.218A, 2014.240B, 2014.300A, 2014.229A, 2014.307A, 2014.206A, 2014.173B, apresentaram-se como virulentos nas cultivares Grande Naine e Platina, enquanto os isolados 2014.262C, 2014.220A foram agressivos às três cultivares.

Observou-se alta variabilidade genética na população de *Fusarium oxysporum f. sp. cubense*, assim como foi possível verificar fontes de resistência em acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Bananeira.

O trabalho apresentou aspectos relevantes sobre a população de *Fusarium oxysporum f. sp. cubense*. Entretanto, são necessários pesquisa mais aprofundada para melhor entendimento desse patossistema, por meio de marcadores moleculares.

Os marcadores moleculares RAPD, SSR, AFLP e ISSR e sequenciamento da região ITS são de grande importância para a compreensão da variabilidade genética de *FOC*. Muitos estudos moleculares têm sido baseados no DNA nuclear ribossomal como é o caso das regiões ITS (espaços internos transcritos). Isso se deve ao fato de se tratar de uma região na qual pode se encontrar a variabilidade genética dentro da mesma espécie. A variação nas suas sequências tem sido escolhida como suporte para caracterização de novas espécies, separação de espécies muito próximas ou de raças de uma mesma espécie. A região ITS tem sido utilizada para estimar a diversidade genética e mostrar uma percepção da estrutura populacional de fungos. Além desses marcadores, o estudo da variabilidade genética de *FOC*

pode ser realizado com base nas análises das sequências do gene nuclear fator de alongação 1 alfa (tef- 1 alfa) e da região IGS (espaço intergênico).