



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
MESTRADO EM AGRONOMIA**

SARA DE SOUSA MARTINS

**CARACTERIZAÇÃO MORFO-MOLECULAR DE ISOLADOS
DE *THIELAVIOPSIS* SPP. PATOGENICOS A FRUTOS DE
BANANA E INFLUÊNCIA DE FATORES AMBIENTAIS NO
DESENVOLVIMENTO DA PODRIDÃO DA COROA**

TERESINA (PI)

2025

SARA DE SOUSA MARTINS

**CARACTERIZAÇÃO MORFO-MOLECULAR DE ISOLADOS
DE *THIELAVIOPSIS* SPP. PATOGÊNICOS A FRUTOS DE
BANANA E INFLUÊNCIA DE FATORES AMBIENTAIS NO
DESENVOLVIMENTO DA PODRIDÃO DA COROA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGA) da Universidade Federal do Piauí (UFPI), na área de concentração de Manejo de Espécies Vegetais e linha de pesquisa em Micologia Agrícola, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Maruzanete Pereira de Melo

TERESINA (PI)

2025

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial CCA
Serviço de Representação Temática da Informação

M386c Martins, Sara de Sousa.
Caracterização morfo-molecular de isolados de *Thielaviopsis spp.* patogênicos a frutos de banana e influência de fatores ambientais no desenvolvimento da podridão da coroa. / Sara de Sousa Martins. -- 2025.
59 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2025.
“Orientador: Prof. Dr. Maruzanete Pereira de Melo.”

1. Podridão da coroa. 2. Banana - pós-colheita. 3. *Thielaviopsis*.
I. Melo, Maruzanete Pereira de. II. Título.

CDD 634.772

Bibliotecário: Rafael Gomes de Sousa - CRB3/1163


Sara de Sousa Martins

Caracterização morfo-molecular de isolados de *Thielaviopsis* spp. patogênicos a frutos de banana e influência de fatores ambientais no desenvolvimento da podridão da coroa

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Piauí, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

APROVADA em 26 de fevereiro de 2025


Comissão Julgadora:

Documento assinado digitalmente
 **HERIKSEN HIGASHI PUERARI**
Data: 29/09/2025 09:40:26-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. Heriksen Higashi Puerari - UFPI

José Evando Assinado de forma digital por José Evando Aguiar Beserra Júnior
Aguiar Beserra Júnior Dados: 2025.09.29 10:58:45 -03'00'

Prof. Dr. José Evando Aguiar Beserra Júnior – UFPI

Documento assinado digitalmente
 **LEONIDAS LEONI BELAN**
Data: 29/09/2025 11:14:22-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. Leônidas Leoni Belan-UEMASAUL

MARUZANETE PEREIRA DE MELO

Prof. Dr. Maruzanete Pereira de Melo - UFPI /Presidente (Orientador)

TERESINA-PI
2025

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, acima de tudo, por me conceder o dom da vida e por iluminar meu caminho rumo ao conhecimento.

Aos meus pais, Ana Maria e Antônio Marcos. Sem vocês, nada disso seria possível. Incentivo, amor e auxílio, sempre para meu sucesso pessoal e profissional. Ao meu irmão, Marcos Santiago, meu amigo e confidente, sou grata por sua existência e pelo exemplo que representa para mim. Aos meus avós, Maria Gomes, João Gomes, Francisca Oliveira e Antônio Santiago Martins (*in memoriam*), exemplos de carinho, amor e família. Profunda gratidão aos meus tios e tias, Francisco, João Francisco, Maria do Socorro, Maria da Conceição, João Luiz e Nilton, pelo apoio e prestígio.

Minha profunda gratidão ao meu orientador, Maruzanete Pereira de Melo, um “pai”, que por 5 anos se dedicou também a me auxiliar no mundo da micologia e que acreditou sempre no meu desenvolvimento profissional e pessoal. Meus sinceros agradecimentos por ter me orientado no Mestrado e me incentivado ao Doutorado na UFLA.

Aos meus amigos de laboratório: Renata Dourizete, com seu carinho e companheirismo, auxiliando nos trabalhos com *Thielaviopsis*, pois foram muitas risadas e trocas de conhecimento. Ao amigo Victor Breno, com seu companheirismo no Mestrado e dedicação à micologia. Aos amigos Letícia Lima, Luciana e Mayllon Gabriel, pela ajuda no desenvolvimento da pesquisa e na condução das atividades em laboratório. Sou infinitamente grata a todos vocês.

Aos membros do Laboratório de Fitopatologia pelo auxílio no desenvolvimento das atividades de pesquisa, em especial ao Kelvim Christ e à Laíse Campelo. Expresso minha profunda gratidão também aos técnicos do Ridesa e Lasem, Leudimar e Joelton. Agradeço também ao professor Dr. José Evando pelo auxílio em diversas etapas do projeto que definiram o andamento da pesquisa. Ao professor Dr. Leônidas Belan por sua paciência e pelo repasse dos conhecimentos estatísticos que auxiliaram na compreensão dos resultados. Ao professor Dr. Alcântara Neto pelo amparo estrutural do laboratório e auxílios gerais.

Aos meus amigos externos à UFPI, que sempre expressaram interesse e permaneceram comigo nesta jornada: Ian Mateus, André Diego, Pedro Marques, Maria Vitória, Francisca Layanne.

À Universidade Federal do Piauí por me proporcionar estrutura para completar minha graduação e meu Mestrado, sempre com oportunidades de Iniciação Científica, estágios e bolsas de estudo. À Fapepi (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Piauí) pela concessão de bolsa de estudos, fundamental para concluir a pesquisa e desenvolver minhas atividades.

*“Na escuridão mantenho a fé
Lutando o quanto eu puder
Seja lá quem enfrentar, sem hesitar estarei
de pé.
O que eu desejar vou conquistar, o futuro
aguardado”.*

- Jojo's Bizarre Adventure

RESUMO

A bananeira (*Musa* spp.) é amplamente cultivada em diferentes países tropicais, destacando-se como o fruto mais produzido e consumido no mundo, com significativa importância econômica e social. Contudo, a produção é afetada por diversos agentes etiológicos, merecendo destaque os fungos fitopatogênicos. Dentre os problemas mais importantes, merecem destaque as doenças pós-colheita, denominadas de podridão da coroa e podridão dos frutos. Importantes problemas fitossanitários têm sido observados na fase de comercialização, transporte e armazenamento. Diante desse cenário, torna-se fundamental identificar as espécies associadas à podridão da coroa em banana e os fatores envolvidos no desenvolvimento da doença. Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo identificar isolados do complexo *Thielaviopsis paradoxa* associados a sintomas de podridão da coroa em frutos de banana; confirmar a patogenicidade dos isolados e avaliar os efeitos de temperatura, fotoperíodo e umidade no desenvolvimento da doença. Para isso, frutos e raquis com sintomas foram coletados em três regiões geográficas distintas e isolados em meio de cultura BDA sob fotoperíodo de 12h a 25°C. Após o isolamento, os isolados foram purificados, caracterizados e armazenados em coleção de cultura. Todos os isolados foram inoculados, com fermento e sem fermento, em frutos de banana da variedade prata. Os frutos foram acondicionados em bandejas plásticas em B.O.D. a 25°C±2/99% UR e fotoperíodo de 12h durante cinco dias. Os testes de influência de temperatura, umidade e fotoperíodo e de influência da forma de embalagem dos frutos foram realizados nas temperaturas de (15°C, 20°C, 25°C e 30°C), fotoperíodo de 12 horas de luz ou escuro, presença ou ausência de umidade e embalagem aberta ou fechada. Foram realizadas extrações de DNA e PCR da região gênica ITS. Os marcadores morfológicos foram insuficientes para determinar a espécie fúngica, porém foi possível revelar que os isolados não pertencem a *Thielaviopsis paradoxa* s. stric. Baseado na análise filogenética da região ITS, 15 isolados agruparam com o isolado de referência *Th. musarum*, 2 isolados com isolado de referência de *Th. ethacetica* e 1 isolado não agrupou com nenhuma espécie descrita, representando uma possível nova linhagem filogenética. Todos os 23 isolados foram patogênicos quando inoculados com fermento em frutos, porém com diferentes níveis de agressividade. Temperaturas abaixo de 20°C foram as ideais para o armazenamento de frutos de banana, evitando o progresso da podridão. Este estudo representa o primeiro relato de *Th. ethacetica* causando podridão em frutos de banana. *Th. musarum* é a espécie predominante causando podridão da coroa.

Palavras-chave: pós-colheita; podridão da coroa; *Thielaviopsis*; controle.

ABSTRACT

The banana plant (*Musa* spp.) is widely cultivated in various tropical countries, standing out as the most produced and consumed fruit in the world, with significant economic and social importance. However, its production is affected by several etiological agents, particularly phytopathogenic fungi. Among the most important problems are the postharvest diseases, known as crown rot and fruit rot, with significant phytosanitary issues observed during marketing, transportation, and storage. Given this scenario, it is crucial to identify the species associated with banana crown rot and the factors involved in the disease development. In this context, this study aimed to identify isolates of the *Thielaviopsis paradoxa* complex associated with crown rot symptoms in banana fruit, confirm the pathogenicity of the isolates, and evaluate the effects of temperature, photoperiod and humidity on disease development. To achieve this, symptomatic fruits and rachises were collected from three distinct geographical regions and isolated on PDA culture medium under a 12-hour photoperiod at 25°C. After isolation, the strains were purified, characterized and stored in a culture collection. All isolates were inoculated, with and without wounding, onto "Prata" variety banana fruit. The fruits were stored in plastic trays in a B.O.D. chamber at 25 ±2°C, 99% RH, under a 12-hour photoperiod for five days. The tests on the influence of temperature, humidity and photoperiod and packaging type were conducted at temperatures of 15°C, 20°C, 25°C and 30°C, a photoperiod of 12 hour of light or dark, presence or absence of humidity and open or closed packaging. DNA extractions and PCR of the ITS gene region were performed. Morphological markers were insufficient to determine the fungal species, but it was possible to reveal that the isolates do not belong to *Thielaviopsis paradoxa* s. stricto. Based on the phylogenetic analysis of the ITS region, 15 isolates clustered with the reference isolate of *Th. musarum*, 2 isolate with the reference isolate of *Th. ethacetica* and 1 isolate did not cluster with any described species, representing a possible new phylogenetic lineage. All 23 isolates were pathogenic when inoculated onto wounded fruit, but with different levels of aggressiveness. Temperatures below 20°C were ideal for fruit storage, preventing disease progression. This study represents the first report of *Th. ethacetica* causing rot on banana fruit. *Th. musarum* is the predominant specie causing crown rot.

Keywords: postharvest; crown rot; *Thielaviopsis*; control.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mapa de coleta de frutos.....	19
Figura 2 - Sintomas de podridão da coroa em frutos de banana.....	26
Figura 3 – Análise filogenética de Inferência Bayesiana resultante do alinhamento dos dados de ITS.....	27
Figura 4 – Culturas de <i>Thielaviopsis</i> spp. em meio MEA 2%.....	29
Figura 5 - Culturas de <i>Thielaviopsis</i> spp. em meio BDA.....	30
Figura 6 – Gráfico do diâmetro da colônia de isolados de <i>Thielaviopsis</i> spp. em BDA e MEA 2%.....	31
Figura 7- Marcadores morfológicos de <i>Thielaviopsis ethacetica</i> em banana.....	33
Figura 8- Marcadores morfológicos de <i>Thielaviopsis musarum</i> em banana.....	34
Figura 9- Marcadores morfológicos de <i>Thielaviopsis</i> sp. nov. (SM 06) em banana.....	34
Figura 10 - Resultados de patogenicidade das inoculações dos isolados de <i>Thielaviopsis</i> spp. em frutos de banana.....	35
Figura 11 – Gráfico de agressividade dos isolados no teste de patogenicidade com ferimento.....	36
Figura 12 - Gráficos da Área Abaixo da Curva do Progresso da Severidade para as temperaturas estudadas sob diferentes umidades e fotoperíodos.....	38
Figura 13 - Gráficos da Área Abaixo da Curva do Progresso da Severidade para as temperaturas de 15°C, 20°C, 25°C e 30°C sob diferentes fotoperíodos e embalagens.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Isolados obtidos nas coletas em frutos de banana-prata.....	28
Tabela 2 - Características morfológicas dos isolados obtidos.....	32
Tabela 3 - Resultado da interação entre os fatores presença ou ausência de água, temperatura e fotoperíodo.....	37
Tabela 4 - Resultado da interação entre os fatores caixa fechada ou aberta, temperatura e fotoperíodo sem de água.....	39

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1	A cultura da banana.....	14
2.2	Principais doenças de etiologia fúngica na cultura da banana.....	14
2.3	Podridão da coroa.....	15
2.4	O complexo <i>Thielaviopsis paradoxa</i>	16
2.5	Fatores que influenciam a podridão da coroa.....	17
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.1	Coleta de frutos e isolamento.....	19
3.2	Purificação dos isolados.....	20
3.3	Extração de DNA, PCR, sequenciamento e análises filogenéticas.....	20
3.4	Caracterização morfológica.....	22
3.5	Teste de patogenicidade.....	22
3.6	Influência da temperatura, água e fotoperíodo no desenvolvimento da doença..	24
3.7	Influência da abertura e fechamento da embalagem no desenvolvimento da doença em diferentes condições de temperatura e fotoperíodo.....	24
4	RESULTADO.....	26
4.1	Coleta de frutos e isolamento.....	26
4.2	Análise de blast e filogenia.....	27
4.3	Caracterização morfológica.....	28
4.4	Teste de patogenicidade.....	35
4.5	Influência da temperatura, água e fotoperíodo no desenvolvimento da doença..	36
4.6	Influência da abertura ou fechamento da embalagem no desenvolvimento da doença em diferentes condições de temperatura e fotoperíodo.....	39
5	DISCUSSÃO.....	42
6	CONCLUSÕES.....	46
7	REFERÊNCIAS.....	47
8	APÊNDICES.....	52

1 INTRODUÇÃO

A bananeira (*Musa spp.*) destaca-se como o fruto mais popular do mundo, com consumo médio de 12 (doze) kg per capita anuais. Além do valor alimentício do fruto, a bananeira apresenta elevado potencial de aproveitamento, abrangendo folhas, pseudocaule, inflorescências e casca dos frutos. Os subprodutos da banana têm ampla aplicabilidade, abrangendo setores diversos, como cosméticos, fertilizantes orgânicos, ração animal e alimentação humana. No contexto alimentar, a banana é utilizada no consumo *in natura* e para a elaboração de subprodutos como doces, compotas e carne vegetal demonstrando sua importância (Mohd Zaini et al., 2022; FAO, 2019).

Fungos associados à bananeira podem comprometer diferentes partes da planta, como sistema radicular, folhas e frutos, resultando na perda do produto final ou na redução de sua qualidade. A banana é um fruto climatérico, no fim da colheita, estando sujeita às condições de impacto negativo na qualidade. Dentre os principais fatores de influência na qualidade dos frutos, destacam-se as podridões, ocasionadoras de deteriorações na casca e na polpa, as quais reduzem o valor comercial e ocasionam perdas significativas para produtores e para consumidores (Xie et al., 2022).

A podridão da coroa é uma doença comum em regiões de clima tropical, locais com alta umidade e temperatura elevada, onde perdas consideráveis são observadas em frutos exportados oriundos de áreas como América Central e Leste africano (Ploetz et al., 1994; Hirata et al., 2001; Lassois et al., 2010). Estudos como os de Lassois et al. (2010) revelam a associação direta entre a podridão da coroa e um complexo de fungos com comportamento endófito. Estes fungos são importantes agentes causadores de lesões necróticas, geralmente apresentando curto período de incubação, fato histórico causador de grandes perdas durante o transporte de frutos de banana dos centros de produção, como a América Central, para centros consumidores como a Europa (Lassois et al., 2010).

Os principais fungos associados à podridão da coroa são *Colletotrichum*, *Lasiodiplodia* e *Thielaviopsis paradoxa*. Um dos fitopatógenos de destaque é *Th. paradoxa*, conhecido como patógeno de monocotiledôneas. Este fungo de solo tem sido registrado como agente etiológico de várias doenças em plantas, especialmente frutíferas, como banana, abacaxi, coqueiro, palmeiras ornamentais, cana-de-açúcar e cacauzeiro (Mbenoun et al., 2015), causando doença nos frutos, na fase de maturação, com os sintomas iniciais de escurecimento da casca e podridão da polpa.

Apesar de sua importância como patógeno na cultura da banana, no Brasil existem diversos relatos dessa espécie associada à podridão da coroa da banana (Mendes et al., 2025). Contudo, mesmo com poucos estudos da associação entre *Thielaviopsis musarum* e

podridão da coroa no Brasil, existem registros desse fungo causando podridão de frutos de banana (Melo et al., 2016). Nos trópicos, especificamente no Brasil, existem muitos relatos de *Thielaviopsis* em frutos de banana, embora as identificações sejam muitas vezes duvidosas, devido ao uso apenas do conceito de espécie morfológica.

Vieira et al (2022) estudaram a existência de diversos relatos dessa espécie no Brasil associada à podridão da coroa da banana (Mendes et al., 2025). Oficialmente, tem sido identificado *Th. musarum* causando podridão da coroa em frutos de banana e, apesar deste único registro, acredita-se na existência de outras espécies do complexo *Thielaviopsis paradoxa* associado à podridão da coroa no Brasil (Melo et al., 2016). Nos trópicos, especificamente no Brasil, existem muitos relatos de *Thielaviopsis* em frutos de banana, embora as identificações sejam muitas vezes imprecisas, devido ao uso apenas do conceito de espécie morfológica (Mendes et al., 1998).

Desta forma, nesta pesquisa, propõe-se, aplicando o conceito de espécie morfológica e filogenética, (i) identificar as principais espécies do complexo *Th. paradoxa* associadas ao sintoma de podridão da coroa em banana, (ii) confirmar a patogenicidade e níveis de agressividade dos isolados em frutos de banana e (iii) verificar se os fatores temperatura, fotoperíodo e umidade relativa interferem no desenvolvimento da doença.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A cultura da banana

A bananeira (*Musa* spp.) é uma planta perene da família *Musaceae*, composta por espécies herbáceas (Maseko et al., 2024). O cultivo desta fruteira é amplamente disseminado, sendo praticado em mais de 80 (oitenta) países em regiões tropicais e subtropicais, com uma produção anual superior a 116 milhões de toneladas, apresentando mercado de movimentação superior a US\$ 5 bilhões (Robinson & Saúco, 2010; Hikal et al., 2022). Estudos filogenéticos indicam o Sudeste asiático como centro de origem da bananeira. Embora existam controvérsias quanto ao real centro de origem, as pesquisas sugerem a Indonésia como a principal região (Valmayor et al., 2000; Wahyudi et al., 2020).

Dentre os frutos tropicais, a banana representa um dos frutos com maior produção, comercialização e consumo, superando citros, maçã e uva (FAO, 2024). No mundo, a Índia se destaca como o maior produtor, sendo registrada produção de 30 milhões de toneladas de frutos, seguida por outros países como China, Indonésia e Brasil (FAO, 2022; Costa et al., 2024). No Brasil, a banana é uma das frutas com maior produção e consumo, cultivada em todos os estados, embora com variações regionais em relação ao volume de produção. Os estados com destaque de produção desta fruta são São Paulo, Pará, Bahia e Minas Gerais.

Apesar da elevada produção, o volume exportado é relativamente pequeno em comparação ao consumo interno no país (IBGE, 2017; Santos et al., 2007; Vidal, 2024).

Frutos de banana podem ser consumidos *in natura*, cozidos e na forma de doces. Além disso, as cascas dos frutos possuem altos níveis de amido e nutrientes (Hikal et al., 2022). Por sua vez, o processo de industrialização dos frutos de banana aumenta a vida útil do alimento e agrega valor ao produto final por meio da produção de doces e pratos com base de banana, como purês, panquecas, pães, bolos, sorvetes e farofas. O uso de frutos de banana é um dos segmentos mais importantes na agroindústria da banana, sendo considerado um típico produto do mercado interno (Damiani et al., 2020; Mohd Zaini et al., 2022).

2.2 Principais doenças de etiologia fúngica na cultura da banana

Na cultura da banana, existem vários fatores bióticos e abióticos causadores de redução na produção. Os fatores bióticos têm sido a maior preocupação dos produtores. Estes fatores estão relacionados aos problemas fitossanitários (Fu et al., 2019). No ano de 2022, devido à presença de patógenos associados à cultura, detectou-se declínio de 4,3% na exportação mundial (FAO, 2024). A interação entre os patógenos associado aos frutos e fatores ambientais pode acelerar os processos de perdas, especialmente quando estes frutos não são armazenados de forma adequada (Lassois et al., 2010).

No Brasil, o patógeno de maior impacto na cultura da banana é o *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*, causador do Mal-do-Panamá. A doença foi relatada em 1930, em Piracicaba (SP). Naquele período, os cultivos de banana eram constituídos basicamente por cultivares do grupo AAB, sendo as principais pertencentes aos subgrupos 'Maçã' e 'Prata', ambas variedades suscetíveis à murcha de *Fusarium*. Em apenas quatro anos, foram dizimadas mais de um milhão de plantas naquele município (Bergamin Filho et al., 2011).

Outras importantes doenças são geradas por fungos causadores de manchas foliares. Estes patógenos, ao infectarem os tecidos foliares, reduzem a taxa fotossintética, interferindo na produção de frutos, devido à redução de produção de fotoassimilados (Marin et al., 2003). Dentre os patógenos de etiologia fúngica causadores de manchas foliares em bananeira, destacam-se: *Mycosphaerella musicola* e *Mycosphaerella fijiensis*, os agentes etiológicos da Sigatoka amarela e Sigatoka negra, respectivamente (Cordeiro & Matos, 2001; Gasparroto et al., 2001).

Os fungos causadores de podridão pós-colheita são outro importante grupo de fitopatógenos na cultura da bananeira. Neste patossistema, destaca-se a presença de antracnose, tendo várias espécies causadas por espécies de *Colletotrichum* como agente etiológico, sendo que as espécies que se destacam são: *C. musae* e *C. siamense*, maiores

causadores de podridões de frutos (Vieira et al., 2017). Nos últimos anos, registrou-se a ocorrência de muitas espécies de *Lasiodiplodia* causando podridão em frutos. Recentemente, foi relatada ocorrência das espécies *L. brasiliense*, *L. iraniensis*, *L. hormozganensis* e *L. laeliocattleyae* como causadores de podridão em frutos (Henry et al., 2023 Silva et al., 2023).

2.3 Podridão da coroa

A podridão da coroa é causada por um complexo de espécies fúngicas, com importante relevância nos problemas das doenças pós-colheita da banana, principalmente em regiões de clima tropical e subtropical, sendo um dos principais problemas durante a exportação. Os sintomas da podridão da coroa iniciam-se de acordo com a maturação dos frutos. No início da maturação, surgem alguns sinais dos patógenos, como o crescimento de micélio na região do corte e, com o avanço da colonização do patógeno, observam-se alguns sintomas como escurecimento da casca. Por fim, com o avanço da doença, os frutos se destacam dos tecidos da coroa (Lassois et al., 2010).

Quando ocorre a colonização dos tecidos da casca e da polpa, acontecem as podridões, fator que compromete a comercialização e consumo dos frutos. A degradação da casca e polpa ocorre devido a enzimas produzidas por esses patógenos, tornando os frutos impróprios para o consumo. Esse amadurecimento precoce está relacionado à liberação de etileno, um hormônio sintetizado por tecidos estressados durante a colonização fúngica, como por estruturas fúngicas, como o micélio (Lassois et al., 2010).

Os fungos associados à podridão da coroa apresentam características endofíticas, colonizando o interior dos tecidos vegetais sadios, nos quais os primeiros sintomas ocorrem somente após o início do amadurecimento do fruto (Kamel et al., 2016; Jahan et al., 2019). Estes fungos causam infecções latentes em frutos imaturos, nos quais a infecção geralmente ocorre nos locais de ferimentos induzidos no momento de colheita e transporte. Outra forma de infecção é por meio da penetração ativa, na qual os fungos rompem a cutícula do tecido devido à ação mecânica de estruturas especializadas e a enzimas de degradação da parede celular vegetal, causando a infecção e colonização (Lassois et al., 2010; Krauss et al., 1998; Zhimo et al., 2016; Kamel et al., 2016).

2.4 O complexo *Thielaviopsis paradoxa*

Thielaviopsis paradoxa é um fitopatógeno polífago presente em diversas regiões do mundo, destacando-se como um agente fitopatogênico em uma ampla gama de hospedeiros (Morgan-Jones, 1967). Historicamente, com base no conceito de espécie morfológica, esse fungo passou por várias alterações taxonômicas, sendo inicialmente denominado

Sporoschisma paradoxum e, posteriormente, *Chalara paradoxa*, *Ceratocystis paradoxa* e, por fim, *Thielaviopsis paradoxa*. Estudos recentes, utilizando abordagens modernas de biologia molecular, revelaram a subdivisão do táxon anteriormente conhecido como *Th. paradoxa* em várias espécies filogenéticas distintas. Dessa forma, *Th. paradoxa lato sensu* foi reclassificado em três grandes grupos (Mbenoun et al., 2014).

O primeiro grupo, composto por duas espécies, *Th. radicola*, um importante fitopatógeno em várias espécies de palmeiras, e *Th. cerberus*, causador de podridão pós-colheita em frutos de *Teobroma cacao*. O segundo grupo inclui *Th. ethacetica*, uma linhagem amplamente distribuída no mundo, com uma ampla gama de hospedeiros, por exemplo, cacau, palma e abacaxi. Embora não haja informações concretas sobre o centro de origem dessa espécie, sua distribuição era originalmente restrita, sendo ampliada para outros hospedeiros por meio de atividades antrópicas (Mbenoun et al., 2014).

Essa espécie foi detectada em áreas de sistemas agroflorestais de cacau na África e, devido às lesões observadas em testes de patogenicidade, foi identificada como um patógeno emergente com potencial agente etiológico causador de podridão em frutos de cacau (Mbenoun et al., 2016). Outra espécie desse grupo, *Th. musarum*, é específica para frutos de *Musa*, mas, apesar de sua relevância como patógeno, foi formalmente relatada apenas na Nova Zelândia e no Brasil. O terceiro grupo compreende *Th. paradoxa stricto sensu* e *Th. euricoi*, ambas as espécies associadas à podridão em frutos de dendezeiro e coqueiro (Mbenoun et al., 2014; Melo et al., 2016).

A representação da espécie *Th. ethacetica* por duas linhagens emergentes foi descoberta com o uso de sequenciamento de nucleotídeos e marcadores moleculares. Embora ambas compartilhem características morfológicas semelhantes, geneticamente são distintas. Acredita-se na evolução de uma das linhagens oriunda no continente africano, associada a plantas nativas de *Elaeis guineensis*. A segunda linhagem, por sua vez, apresenta prevalência em *Teobroma cacao* e *Ananas comosus*, ambas as espécies originárias da América do Sul (Mbenoun et al., 2015).

No Brasil, existem vários relatos da associação de "*Thielaviopsis paradoxa*" em frutos de banana. No entanto, estes relatos foram realizados apenas por avaliação de marcadores morfológicos, técnica não suficiente para distinguir espécies, devido a fungos do gênero compartilharem marcadores morfológicos semelhantes, a identificação apenas por avaliação dos marcadores morfológicos. Além disso, os estudos envolvendo a correta identificação de isolados de *Thielaviopsis* em frutos de banana são escassos, pois até o momento só existem sequências de nucleotídeos de apenas 3 isolados obtidos de banana depositados no GenBank.

2.5 Fatores de influência da podridão da coroa

Fitodoenças quiescentes como a podridão da coroa são influenciados por vários fatores abióticos, como umidade e temperatura. Podem influenciar no progresso da doença, comprometendo a qualidade dos frutos, principalmente durante os processos de comercialização. Esses fatores afetam diretamente a biologia do patógeno quanto ao metabolismo do fruto (Lassois et al., 2010). Além disso, a fisiologia dos frutos, atividades bioquímicas e a genética do patógeno também possuem relação direta com o desenvolvimento da podridão da coroa (Kamel et al., 2016; Chillet et al., 1996; Kamore et al., 2024).

Fatores ambientais influenciam diretamente no desenvolvimento da podridão da coroa, com frutos acondicionados em alta umidade relativa possuindo maior incidência do patógeno (Ewané et al., 2013). Esse cenário evidencia o período chuvoso e a umidade como os principais fatores de favorecimento para a doença em frutos de bananas (Lassois et al., 2010; Damasceno et al., 2019). O aumento da UR impede a perda de água do fruto por transpiração, evitando assim a maturação dos frutos. Em contrapartida, em condições de baixa UR, entre 30% e 40%, a vida verde é reduzida devido à produção de etileno a partir da casca do fruto, acelerando o processo de maturação (Lassois et al., 2010).

Em áreas de cultivos com altas temperaturas, observou-se maior incidência da podridão da coroa, enquanto em áreas de baixa temperatura, o progresso das podridões é reduzido. Desta forma, uma das maneiras de reduzir as podridões da coroa seria o armazenamento dos frutos em temperaturas entre 13°C e 14°C, faixa de inibição do crescimento fúngico, sem causar distúrbios fisiológicos aos frutos. Temperaturas abaixo de 12°C induzem o escurecimento da casca, e temperaturas acima de 16°C favorecem maior incidência e gravidade da podridão da coroa. A atividade do fungo ocorre em uma ampla faixa térmica (8°C a 36°C), mas o crescimento é significativamente retardado em 13°C, ressaltando a importância da refrigeração contínua durante o transporte e armazenamento reduzindo desta forma as perdas (Lassois et al., 2010).

A fisiologia do hospedeiro pode ocasionar o desenvolvimento mais rápido da doença, pois fatores como metabolismo, água, respiração, açúcares presentes, pH, metabólitos e fitormônios podem inibir ou acelerar o processo de amadurecimento e a resistência ao patógeno (Chillet et al., 1996). A idade do fruto expressa em graus-dia acumulados pode afetar o desenvolvimento da podridão da coroa, com uma relação linear observada entre idade do fruto e a suscetibilidade à podridão da coroa, nos quais frutos com estágio fenológico mais avançado possuem maior susceptibilidade (Lassois et al., 2010).

Estas características fisiológicas tornam uma fruta mais susceptível à deterioração por fungos, aumentando quantitativamente a proporção de contaminação e perdas de produção (Al-Hindi et al., 2011; Chillet et al., 1996). No Brasil, existem diversos relatos dessa espécie

associada à podridão da coroa da banana (Mendes et al., 2025). Oficialmente, tem sido identificado *Th. musarum* causando podridão da coroa em frutos de banana e, apesar deste único registro, acredita-se na existência de outras espécies do complexo *Thielaviopsis paradoxa* associadas à podridão da coroa no Brasil (Melo et al., 2016).

Contudo, em se tratando da espécie *Thielaviopsis musarum*, embora existam poucos estudos da associação dessa espécie à podridão da coroa, no Brasil há registros desse fungo causando podridão de frutos de banana (Melo et al., 2016). Nos trópicos, especificamente no Brasil, existem muitos relatos de *Thielaviopsis* em frutos de banana, embora as identificações sejam muitas vezes imprecisas, devido ao uso do conceito de espécie morfológica (Mendes et al., 1998).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta de frutos e isolamento

Durante visitas fitossanitárias em áreas de produção de banana e centrais de abastecimento nos municípios de Santo Amaro (BA), Guadalupe (PI) e Castanhal (PA) (Fig. 1), foram realizadas coletas de frutos de banana com sintoma de podridão. Os frutos foram armazenados em sacos plásticos para transporte. Em seguida, foram incubados em câmara úmida para indução de esporulação. Três dias após a incubação, com auxílio de agulha metálica esterilizada, fragmentos de micélio foram removidos do tecido colonizado e transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA). As placas foram incubadas em B.O.D. sob fotoperíodo de 12h e temperatura de 27°C. Três dias após a incubação, obtiveram-se culturas típicas de *Thielaviopsis*. Os isolados obtidos foram armazenados em microtubos de 2 mL em refrigerador a temperatura de 10°C.

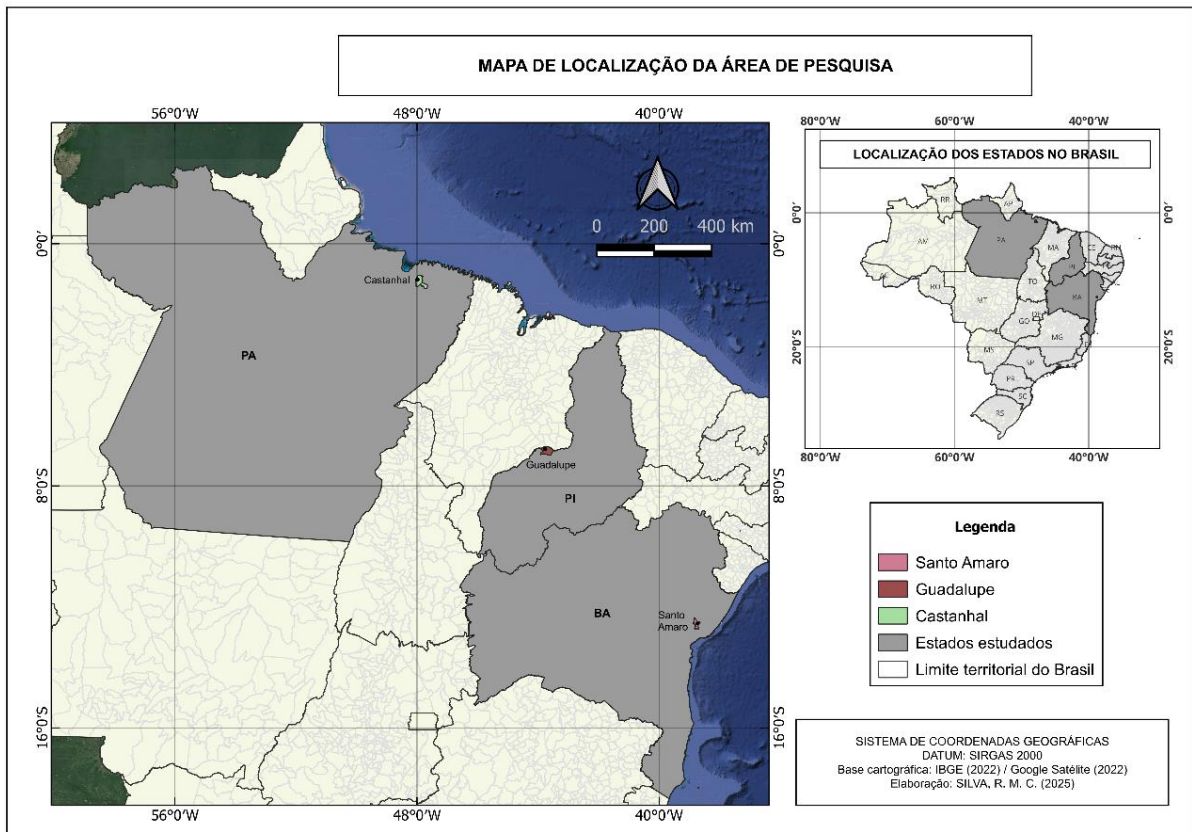


Figura 1: Mapa geográfico que representa as áreas onde foram realizadas as coletas de frutos de banana

3.2 Purificação dos isolados

Com o objetivo de purificar os isolados, realizou-se o cultivo monospórico. Os isolados foram cultivados em meio de cultura BDA (Batata dextrose Agar) e, após 3 (três) dias, uma pequena porção de micélio foi transferida para microtubos de 1,5 mL contendo água destilada esterilizada. O microtubo foi submetido a agitação manual para homogeneização, com auxílio de uma pipeta. 1mL de suspensão de esporos foi transferido para uma nova placa de Petri contendo meio de cultura Ágar-Água e incubada por 24 horas a 25°C. Após este período, as placas foram observadas em microscópio estereoscópio e, com auxílio de uma agulha hipotérmica esterilizada, foi transferido bloco de meio de cultura, com a presença do esporo germinado para uma nova placa

As placas foram incubadas a 25°C durante 10 (dez) dias. Os isolados foram preservados em microtubos contendo glicerol a 15%, mantidos em ultra freezer (-80°C) e em água destilada esterilizada e armazenados em refrigerador (2°C) no Laboratório de Produção Vegetal do Ridesa da Universidade Federal do Piauí (UFPI) para as próximas etapas do processo da pesquisa.

3.3 Extração de DNA, PCR, sequenciamento e análises filogenéticas

Os isolados foram cultivados em meio líquido à base de extrato de malte 2% por três (3) dias em temperatura ambiente variando entre 20 e 28 °C e sob agitação de 100 RPM. O micélio foi filtrado, macerado em nitrogênio líquido e o DNA foi extraído utilizando-se o protocolo de Möller et al. (1992), com modificações, no Laboratório de Biologia Molecular, Departamento de Fitotecnia, na Universidade Federal do Piauí (UFPI/CCA). O procedimento iniciou-se com a adição de 600 µL de tampão de extração em microtubos de 1,5 mL com posterior acréscimo do micélio e maceração com pistilo de plástico esterilizado para obtenção de um líquido pastoso. As amostras foram levadas ao banho-maria por um período de 1h, à temperatura de 65 °C (com agitação em vórtex a cada 10 minutos) e posterior centrifugação a 12.000 RPM por um período de 10 (dez) minutos. O sobrenadante remanescente obtido foi transferido para novos tubos contendo 500 µL de CIA e 200 µL de CTAB 2%.

Em seguida, as amostras passaram por agitação em vórtex e por uma etapa de centrifugação a 12.000 RPM durante 15 (quinze) minutos. Posteriormente, o sobrenadante foi cuidadosamente transferido para novos microtubos esterilizados contendo 500 µL de isopropanol a 4 °C com posterior homogeneização por inversão e centrifugação a 10.000 RPM por 10 (dez) minutos. Os sobrenadantes resultantes foram descartados e junto à parte sólida (pellet), foram adicionados 1000 µL de etanol 70%. Posteriormente, as amostras passaram por um novo processo de centrifugação a 12.000 RPM por 10 (dez) minutos, seguido de descarte do sobrenadante. Essa etapa foi repetida duas vezes para buscar maior pureza do DNA extraído. Por último, o pellet secou à temperatura ambiente e foi ressuscitado em 50 µL de água ultrapura para sua completa dissolução.

Os produtos da extração foram amplificados em PCR, com os pares de primer ITS1/ITS4, correspondentes à região entre os genes 18SrDNA e 28SrDNA. Os fragmentos de DNA provenientes da amplificação foram separados em gel de agarose a 1% contendo tampão TBE (Tris-Borato-EDTA) 0,5x em cuba horizontal de eletroforese e intercalados com brometo de etídio para visualização sob luz UV em transiluminador UVB (Loccus do Brasil, São Paulo, Brasil).

As análises filogenéticas foram realizadas com sequências de DNA da região gênica ITS. Os seguintes pares de primers foram utilizados nas reações de PCR e de sequenciamento: ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') para a região ITS (White et al., 1990). As PCRs foram realizadas com as seguintes concentrações: 12,5 µL Taq PCR Master Mix 2x, 2 µL de cada primers (reverse e forward) e 9 µL de água ultrapura, totalizando um volume final de 25 µL. As condições das reações seguiram recomendações dos autores de cada par de primers. Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1% corado com GelRed

(Biotium®), com posterior visualização realizada em um transluminador. O comprimento dos fragmentos amplificados foi comparado com um marcador de comprimento de fragmentos 1 Kb. Os fragmentos amplificados foram purificados utilizando-se o kit Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega Brasil, São Paulo, BR). Os fragmentos dos genes foram sequenciados na empresa Macrogen, USA. Os eletroferogramas gerados foram analisados visualmente com o auxílio do programa SeqAssem (Hepperle, 2004) e as sequências editadas foram comparadas com a base de dados GenBank, do National Center for Biotechnological Information – NCBI, por meio do programa BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/cgi-bin/BLAST/>). Sequências de referência correspondentes a ITS das espécies do complexo *Th. paradoxa*, previamente depositadas no GenBank, também foram acrescentadas às análises. No programa MEGA 6® (Tamura et al., 2013), foram feitos os alinhamentos múltiplos das sequências utilizando-se a ferramenta CLUSTALW (Thompson et al., 1994), bem como as análises filogenéticas utilizando-se o método de Máxima Parcimônia (MP). Também foram realizadas análises filogenéticas com base no princípio da Inferência Bayesiana, utilizando o software Mr Bayes 3.1.2 (Ronquist et al., 2012). As árvores filogenéticas foram obtidas para as regiões gênicas isoladamente, bem como as árvores combinadas.

3.4 Caracterização morfológica

Os isolados foram cultivados em meio de cultura Extrato de Malte 2% (MEA) e sobre a superfície do meio foram depositados pequenos fragmentos de colmos de cana-de-açúcar esterilizados, para induzir a esporulação dos isolados fúngicos. As placas foram incubadas em B.O.D. a 25°C no escuro durante dez (10) dias e, por fim, foi analisado o crescimento micelial diário, observando as características visuais de cada isolado em meio de cultura. As características morfológicas foram determinadas para culturas com dez (10) dias de idade, mantidas em MEA a 2% e temperatura de 27°C (Mbenoun et al., 2014). As cores das colônias foram determinadas com base na Tabela de Cores Micológicas de Mcknight e Rayner (1970).

Foram realizadas preparações microscópicas para visualizar as estruturas fúngicas com água e glicerina na proporção de 1:1. As lâminas foram observadas em microscópio Primostar 3, captando imagens com o auxílio de dispositivo de imagem Moticam 2.0, determinando as dimensões das estruturas observadas. Foram efetuadas medições de comprimento e largura de cinquenta (50) conídios, obtida a razão comprimento e largura (C/L), e a média das medições realizadas para os conídios dos isolados estudados.

Para avaliar o crescimento das culturas de todos os isolados em diferentes meios de cultura (BDA e MEA 2%), fragmentos de 2 mm de diâmetro de meio de cultura contendo estruturas vegetativas dos isolados, foram depositados no centro de placas de Petri de 90 mm contendo os respectivos meios de cultura. As placas foram incubadas durante 72 horas no

escuro a 27°C. As medições do diâmetro de crescimento micelial foram realizadas para todas as colônias em dois eixos perpendiculares e foi calculada, ao fim das medições, a área de crescimento de cada isolado com base no diâmetro (Mbenoun et al., 2014). O experimento foi conduzido como fatorial duplo com três (3) repetições.

3.5 Teste de patogenicidade

Inicialmente, foram selecionados frutos de banana da variedade prata no estágio de maturação amarelo com pontas verdes para avaliar a patogenicidade de todos os isolados coletados. Estes foram cultivados em meio de cultura BDA durante quatro (4) dias, período necessário para modificação da cor da colônia.

Em seguida, os frutos foram desinfectados superficialmente para remoção de possíveis microrganismos saprófitos. Os frutos foram separados individualmente no pedúnculo e submersos em água com hipoclorito de sódio (1%) na proporção de 9:1, durante cinco (5) minutos. Após a submersão, os frutos foram lavados com água esterilizada e depositados sobre uma bandeja contendo folhas de papel-toalha para secarem. As inoculações foram realizadas de duas formas: (i) com realização de ferimento na casca do fruto e (ii) sem ferimento na casca.

No teste com realização de ferimento, fragmentos de micélio com 1 mm de diâmetro foram inseridos nos frutos, com o auxílio de tubos plásticos esterilizados (hastes de cotonete), perfurando a casca do fruto a 1,5 cm de profundidade, tamanho no qual atingiu a polpa. Os frutos foram mantidos em caixas plásticas contendo 8 mL de água esterilizada e armazenados em B.O.D. a 25°C±2/99% UR e fotoperíodo de 12 horas (Melo et al., 2016 adaptado) durante 96 horas, período de infecção completa do fruto.

No teste sem ferimento, um disco de micélio de 1 mm de diâmetro de cada isolado foi depositado sob a casca dos frutos. Este disco de micélio foi umedecido com uma gota d'água esterilizada e os frutos foram mantidos em caixas plásticas contendo 8 mL de água esterilizada em B.O.D. a 25°C±2/99% UR e fotoperíodo de 12 horas (Melo et al., 2016 adaptado). O teste foi realizado por um período de 96 horas. As avaliações foram realizadas diariamente em ambos os testes, identificando a presença e ausência da doença, além da realização de medições quando houvesse a presença dos sintomas nos frutos.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com quatro (4) repetições (quatro frutos inoculados por caixa) e dois (2) frutos-testemunha. Em cada bloco (caixa com frutos), foi utilizado um (1) isolado, totalizando vinte e três (23) blocos e cento e trinta e oito (138) frutos. Diariamente, foram realizadas as medições com o auxílio do paquímetro digital para análise dos dados. Por fim, os frutos foram submetidos a procedimento de reisolamento fúngico visando confirmar os Postulados de Koch.

Os dados foram submetidos à análise de variância e comparados com o teste F ($p < 0,05$). Quando significativo, os isolados foram comparados por teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do sistema computacional “RStudio” e pacote ExpDes.pt (R CORE TEAM, 2024).

3.6 Influência da temperatura, água e fotoperíodo no desenvolvimento da doença

Com base no resultado do teste de patogenicidade, o isolado com maior virulência (MP 143) foi selecionado para realizar o teste de influência de temperatura, água e fotoperíodo. A metodologia utilizada foi a mesma do teste de patogenicidade com fermento. Os frutos foram limpos e o micélio do isolado selecionado foi inserido em todos os frutos nas mesmas condições do teste de patogenicidade.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial triplo com quatro (4) repetições dentro dos blocos (compostos com os isolados). O fator 1 (temperatura) foi composto por quatro (4) níveis (15, 20, 25 e 30 °C) (Fernandes et al., 2010), o fator 2 (água líquida) foi composto por dois (2) níveis (presença ou ausência) e o fator 3 (fotoperíodo) foi composto por dois (2) níveis (escuro ou 12 horas), com resultado de um experimento fatorial 4x2x2. As testemunhas foram inoculadas apenas com discos de meio de cultura esterilizado. Junto com os frutos, foram inseridos termo-higrômetros para medição diária de temperatura e umidade. O teste teve duração de 96 horas, tempo necessário pelo isolado selecionado para colonização completa dos frutos.

Os dados foram submetidos à análise de variância fatorial e as interações entre os fatores comparadas via teste F ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$). Quando a interação entre os fatores foi significativa para o teste F, os níveis do fator temperatura foram comparados por análise de regressão linear ($p < 0,05$). Os níveis do fator água líquida ($p < 0,05$) e os níveis do fator fotoperíodo foram comparados por teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.7 Influência da abertura ou fechamento da embalagem no desenvolvimento da doença em diferentes condições de temperatura e fotoperíodo

Para o teste de influência da embalagem no desenvolvimento da doença, foi utilizada a metodologia do teste de influência da temperatura, umidade e luminosidade com o isolado mais agressivo do teste de patogenicidade. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial triplo com quatro (4) repetições, sendo cada repetição composta por uma caixa contendo quatro (4) frutos inoculados com o fungo.

O fator 1 (temperatura) foi composto por quatro (4) níveis (15, 20, 25 e 30 °C), o fator 2 (condição da caixa) foi composto por dois (2) níveis (aberta ou fechada) e o fator 3

(fotoperíodo) foi composto por dois (2) níveis (escuro ou 12 horas). Foram utilizados dois (2) frutos-testemunha com discos de meio de cultura BDA. Os frutos foram acondicionados em bandejas plásticas contendo termo-higrômetros para mensuração da temperatura e umidade diariamente, por meio do registro de máximas e mínimas durante o período de 24 horas. O experimento foi realizado durante um período de 96 horas (período de total colonização do fruto pelo patógeno) e, diariamente (a cada 24 horas), o tamanho da lesão foi medido com o auxílio de um paquímetro digital para mensurar o tamanho da lesão.

Os dados foram submetidos à análise de variância fatorial e as interações entre os fatores comparadas via teste F ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$). Quando a interação entre os fatores foi significativa para o teste F, os níveis do fator temperatura foram comparadas por análise de regressão linear ($p < 0,05$). Os níveis do fator água líquida e os níveis do fator fotoperíodo foram comparados por teste de Tukey ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS

4.1 Coleta de frutos e isolamento

Durante as coletas, foram observados frutos de banana maduros com sintomas de podridão da coroa. A doença foi observada apenas em frutos maduros, com sintomas de escurecimento da casca e amolecimento da polpa, reflexo da colonização do fungo. Sob a região do corte do raquis/pedúnculo foi observada a formação de micélio com coloração variando de branco a cinza (Fig. 2). Foram obtidos vinte e três (23) isolados com características morfo-culturais de *Th. paradoxa*.

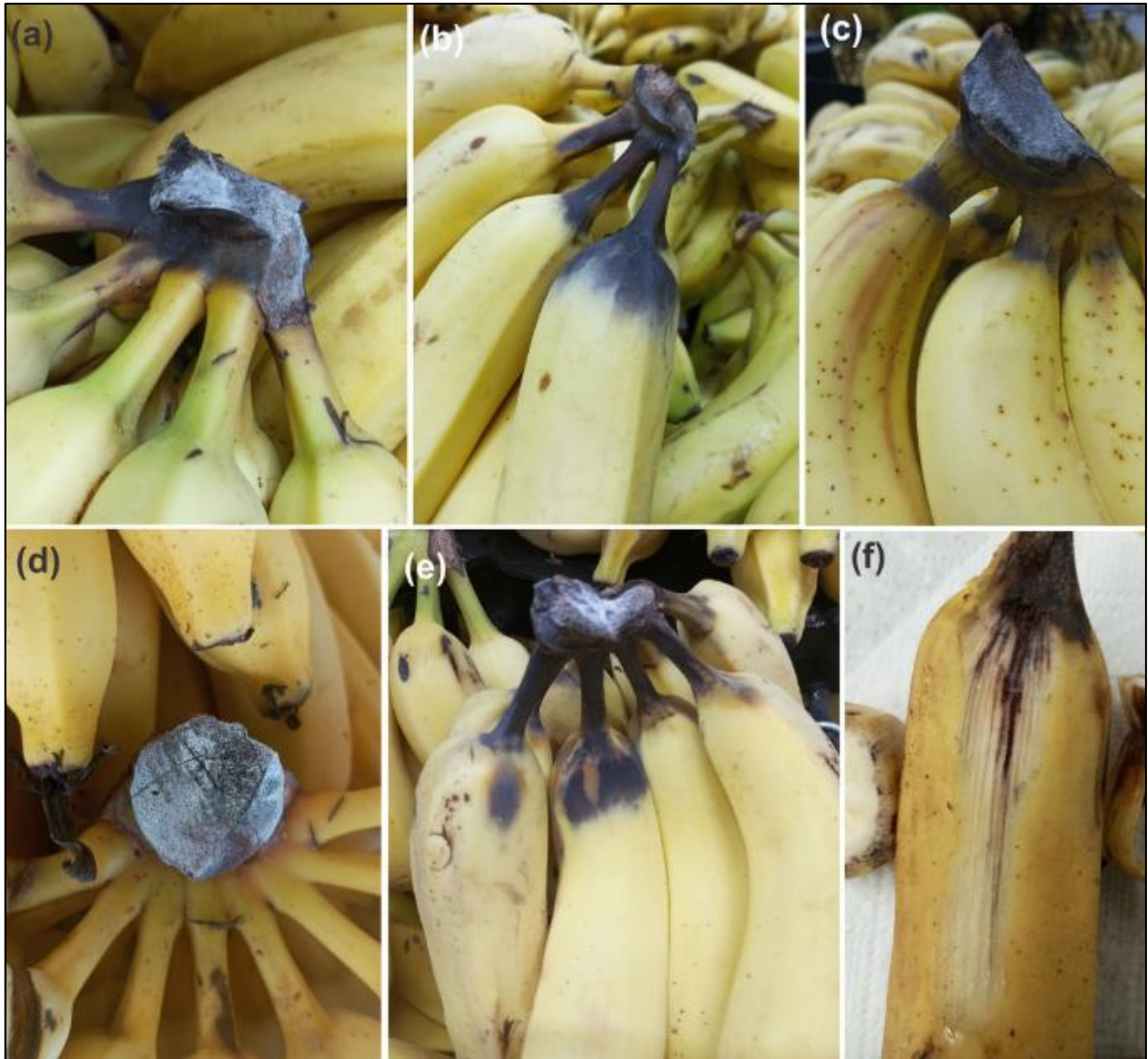


Figura 2: Sintomas de podridão da coroa em frutos de banana. (a) Início dos sintomas de podridão da coroa. (b) Avanço da podridão com escurecimento da casca dos frutos. (c) – (e) Escurecimento da casca. (d) Sinais do patógeno na região do corte do pedúnculo. (f) Avanço da podridão para a polpa do fruto.

4.2 Análise filogenia

Baseado na análise filogenética da região ITS, a maioria dos isolados (15 isolados) agruparam com o isolado de referência *Th. musarum* (CMW 1546). Dois (2) isolados (MP 143 e MP 178) agruparam com o isolado de referência de *Th. ethacetica* IMI 50560. Um (1) isolado (SM 06) não agrupou com nenhuma espécie descrita, sendo representado por uma nova linhagem filogenética do clado II (Fig. 3).

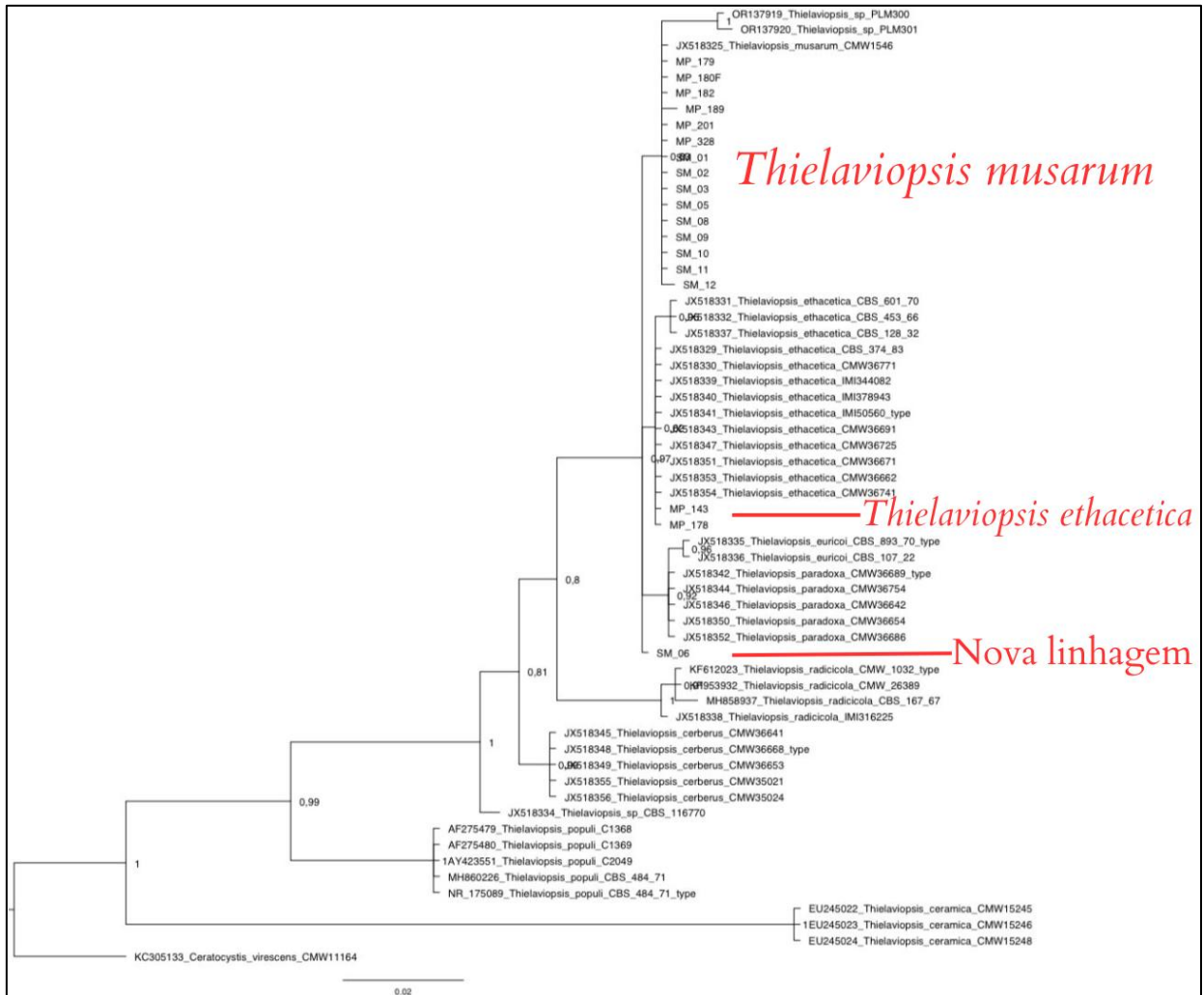


Figura 3: Árvore de Inferência Bayesiana resultante do alinhamento dos dados de ITS. Valores de bootstrap superiores a 70 são indicados nos nós. A árvore tem raízes com *Ceratocystis virescens*.

De acordo com as análises filogenéticas, os isolados coletados foram agrupados de acordo com seus locais de origem (Tabela 1).

Tabela 1. Isolados obtidos nas coletas em frutos de banana-prata

Código Isolado	Espécie	Origem
SM 01	<i>Thielaviopsis musarum</i>	Guadalupe (PI)
SM 02	<i>Thielaviopsis musarum</i>	Guadalupe (PI)
SM 03	<i>Thielaviopsis musarum</i>	Guadalupe (PI)
SM 05	<i>Thielaviopsis musarum</i>	Guadalupe (PI)
SM 06	<i>Thielaviopsis</i> sp nov.	Guadalupe (PI)
SM 08	<i>Thielaviopsis musarum</i>	Guadalupe (PI)
SM 09	<i>Thielaviopsis musarum</i>	Guadalupe (PI)
SM 10	<i>Thielaviopsis musarum</i>	Guadalupe (PI)

SM 11	<i>Thielaviopsis musarum</i>	Guadalupe (PI)
SM 12	<i>Thielaviopsis musarum</i>	Guadalupe (PI)
MP 143	<i>Thielaviopsis ethacetica</i>	Cariri (CE)
MP 162	<i>Thielaviopsis</i> sp.	Cariri (CE)
MP 163	<i>Thielaviopsis</i> sp.	Cariri (CE)
MP 168	<i>Thielaviopsis</i> sp.	Cariri (CE)
MP 178	<i>Thielaviopsis ethacetica</i>	Cariri (CE)
MP 179	<i>Thielaviopsis musarum</i>	Cariri (CE)
MP 180	<i>Thielaviopsis musarum</i>	Cariri (CE)
MP 182	<i>Thielaviopsis musarum</i>	Cariri (CE)
MP 189	<i>Thielaviopsis musarum</i>	Cariri (CE)
MP 201	<i>Thielaviopsis musarum</i>	Cariri (CE)
MP 202	<i>Thielaviopsis</i> sp.	Cariri (CE)
MP 328	<i>Thielaviopsis musarum</i>	Castanhal (PA)
MP 329	<i>Thielaviopsis</i> sp.	Castanhal (PA)

4.3 Caracterização morfológica

Durante as avaliações morfológicas, no meio de cultura MEA 2%, a coloração das colônias foi cinza a escuro e crescimento ralo (Fig. 4) e alguns isolados crescimentos concêntricos (Fig. 4 f-i-l-s-w). Nas culturas em meio de cultura MEA 2%, com presença de fragmentos de colmo de cana-de-açúcar, não foi observada a produção de conidióforos do tipo sinemata.

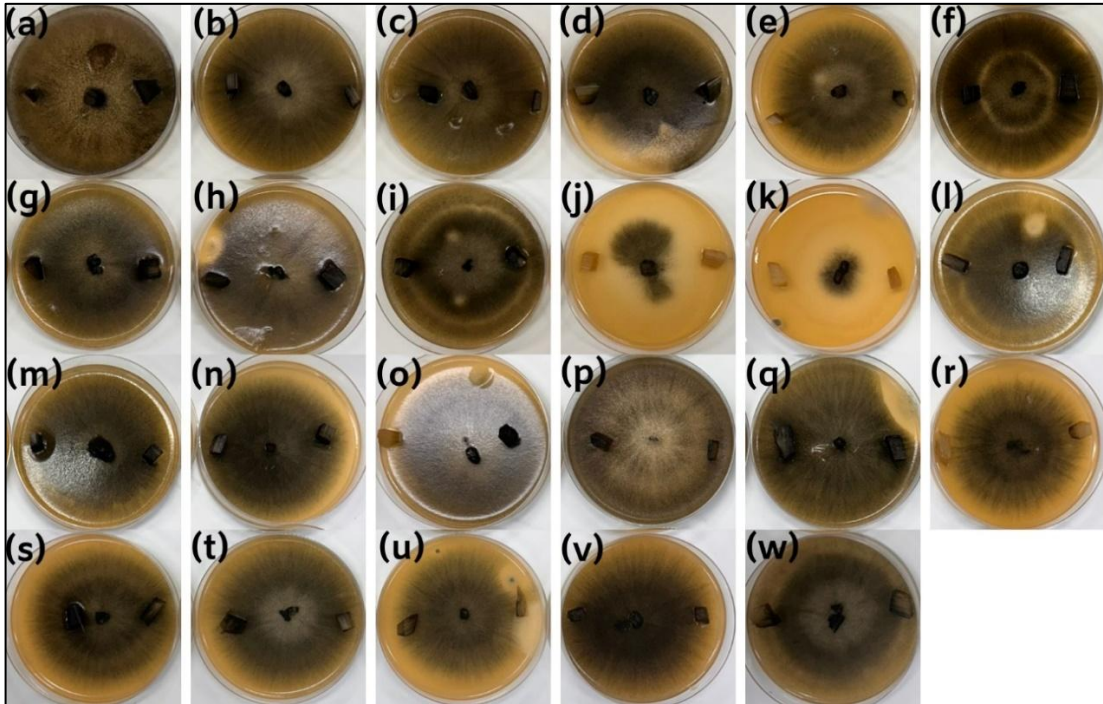


Figura 04: Cultivo de isolados em Meio MEA2%: Isolados de *Thielaviopsis* spp. cultivados em meio de cultura Extrato de Malte 2%.

Em meio de cultura BDA, a coloração das colônias foi inicialmente branca, evoluindo para cinza e para escuro (Fig. 5). Não houve presença da formação de halos concêntricos devido ao rápido crescimento cultural de todos os isolados.

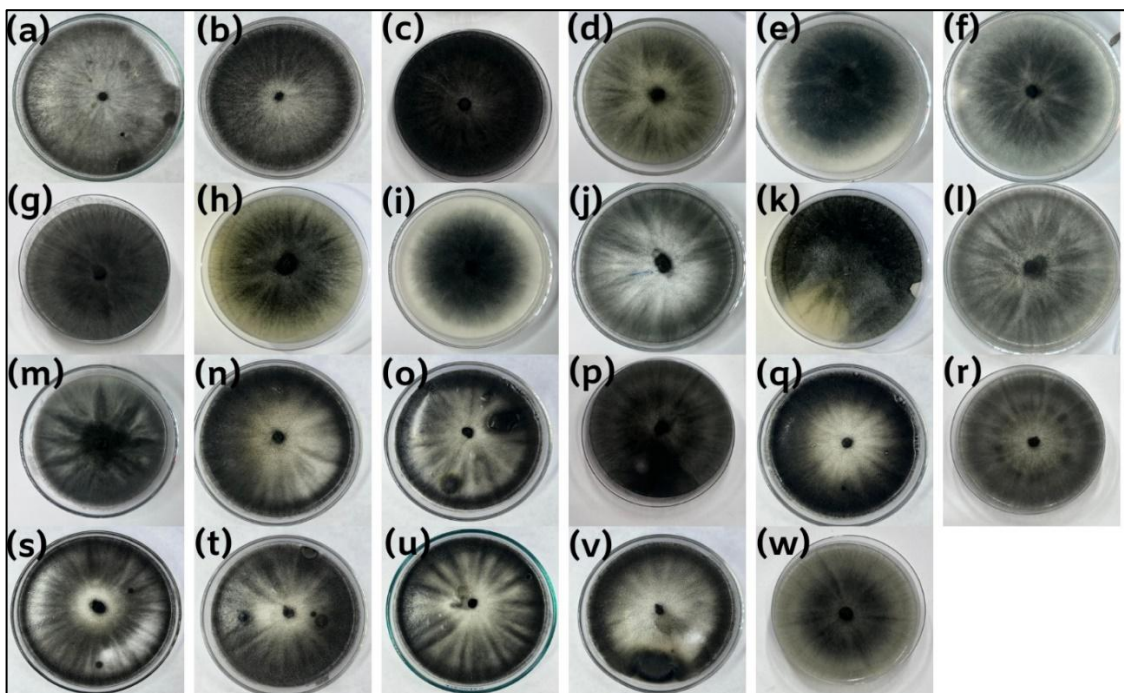
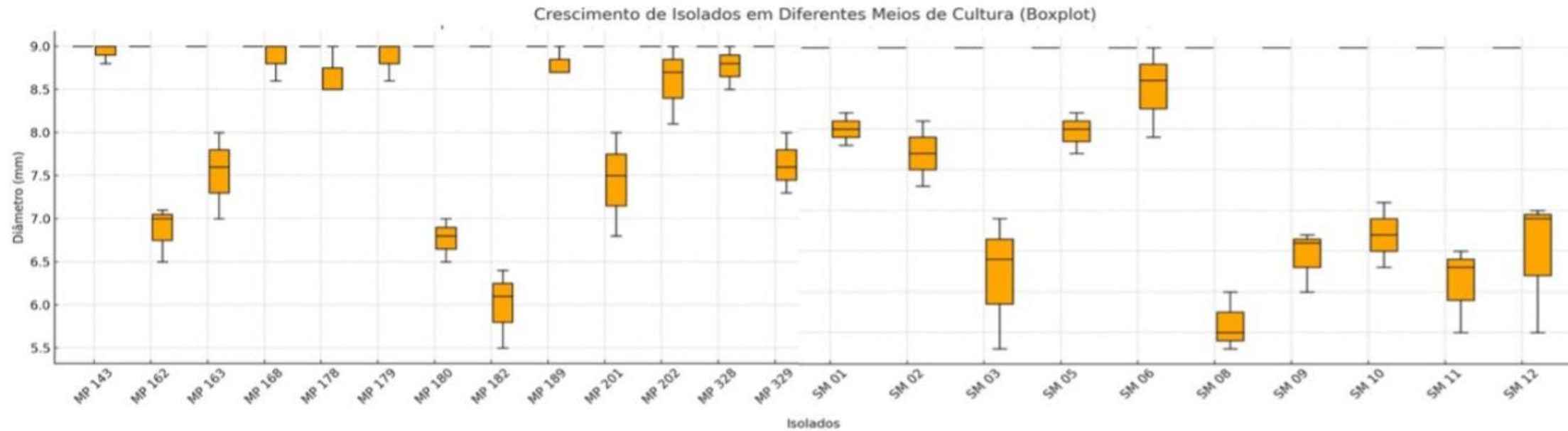


Figura 5: Cultivos de isolados de *Thielaviopsis* em BDA: Características morfológicas de coloração e aspecto da cultura.

De acordo com o crescimento dos isolados nos diferentes meios de cultura, e com base nas medições realizadas, foi obtido o resultado de crescimento (Fig.1). No meio de cultura BDA, todos os isolados atingiram o tamanho máximo de crescimento na Placa de Petri (90mm), destacando no gráfico apenas linhas.

Gráfico 1: Diâmetro de colônia de isolados de *Thielaviopsis* spp. em BDA e MEA 2% após 72 horas de incubação e fotoperíodo de 12 horas.



Destacado em laranja, crescimento em meio de cultura MEA 2%. Todos os isolados crescidos em meio BDA possuíram crescimento igual a 90 mm, ocasionando uma linha contínua sem diferenciação.

Fonte: Briozo, M. E. O (2025).

Durante as avaliações morfométricas, foram identificados conídios primários produzidos em cadeias. Com a evolução da cultura, os conídios primários adquiriam forma e coloração diferentes, estando ainda em cadeias de conídios ou separados de forma individual, chamados de conídios secundários. Os aleuroconídios, presentes na cultura mais velha, modificam sua coloração para mais escura e possuem também a presença de uma parede dupla de coloração escura em sua estrutura.

	<i>Th. ethacetica</i>	<i>Th. musarum</i>	<i>Thielaviopsis. sp. nov.</i> (SM 06)
Conídio primário			
Coloração	hialino	hialino	hialino
Forma	retangular	retangular	retangular
Comprimento	12,34 µm	10,79 µm	11,70 µm
Largura (Central)	4,5 µm	4,75µm	4,2 µm
Largura (Base)	4,4 µm	4,32 µm	3,86 µm
Parede dupla	não	não	não
Conídio secundário			
Coloração	marrom claro	marrom claro	marrom claro
Forma	ovoide	ovoide	ovoide - periforme
Comprimento	12,97 µm	12,19 µm	13,05 µm
Largura (Central)	4,84 µm	6,75 µm	7,18 µm
Largura (Base)	5,33 µm	5,93 µm	5,12 µm
Parede dupla	não	não	não
Aleuroconídio			
Coloração	marrom escuro	marrom escuro	marrom escuro
Forma	ovoide / globoso	ovoide / globoso	ovoide-periforme / globoso
Comprimento	12,01 µm	13,66 µm	16,80 µm
Largura (Central)	6 µm	8,91 µm	10,30 µm
Largura (Base)	8 µm	6,39 µm	7,23 µm
Parede dupla	sim	sim	sim

Tabela 2. Características morfológicas dos isolados obtidos

Para todos os isolados, observou-se que todos os isolados apresentaram características morfológicas desde características culturais e micro-morfológicas. Os isolados de *Th. ethacetica* (Fig. 07) apresentaram culturas com coloração escura e micélio branco a cor negra. Os conídios primários são produzidos em cadeias, por meio da fragmentação de hifas (Conidiogene tática). Os conídios apresentam formato retangulares e hialinos. Após 48 horas de crescimento, observaram-se conídios secundários, com coloração marrom claro e formato ovoide. No terceiro dia de avaliação, houve a constatação da presença de aleuroconídios, conídios de resistência com dupla parede espessa.

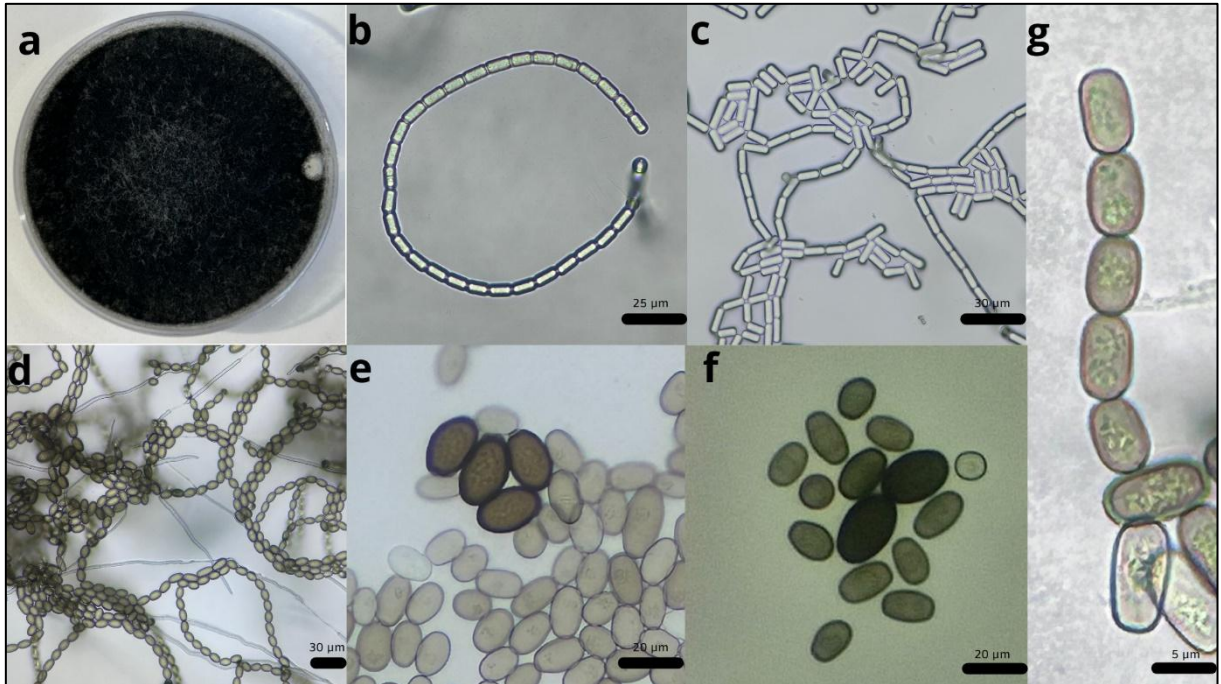


Figura 7: Marcadores morfológicos de *Thielaviopsis ethacetica*. A. Cultura com 10 dias de idade em BDA. a. Cultura com 72 horas de crescimento. b-c. conídio primário hialino em cadeias. d-g. conídios secundários em cadeia. e. conídios secundários e aleurocnídios em destaque mais escuros e com dupla parede. f. aleuroconídios com dupla parede.

Os isolados de *Th. musarum* apresentaram variação de cor dependendo do isolado, possuindo coloração escura e, em alguns casos, oliva escuro (Fig.08). Durante avaliação de características, observaram-se conídios primários, conídios secundários e aleuroconídios (Informações Tab. 2).

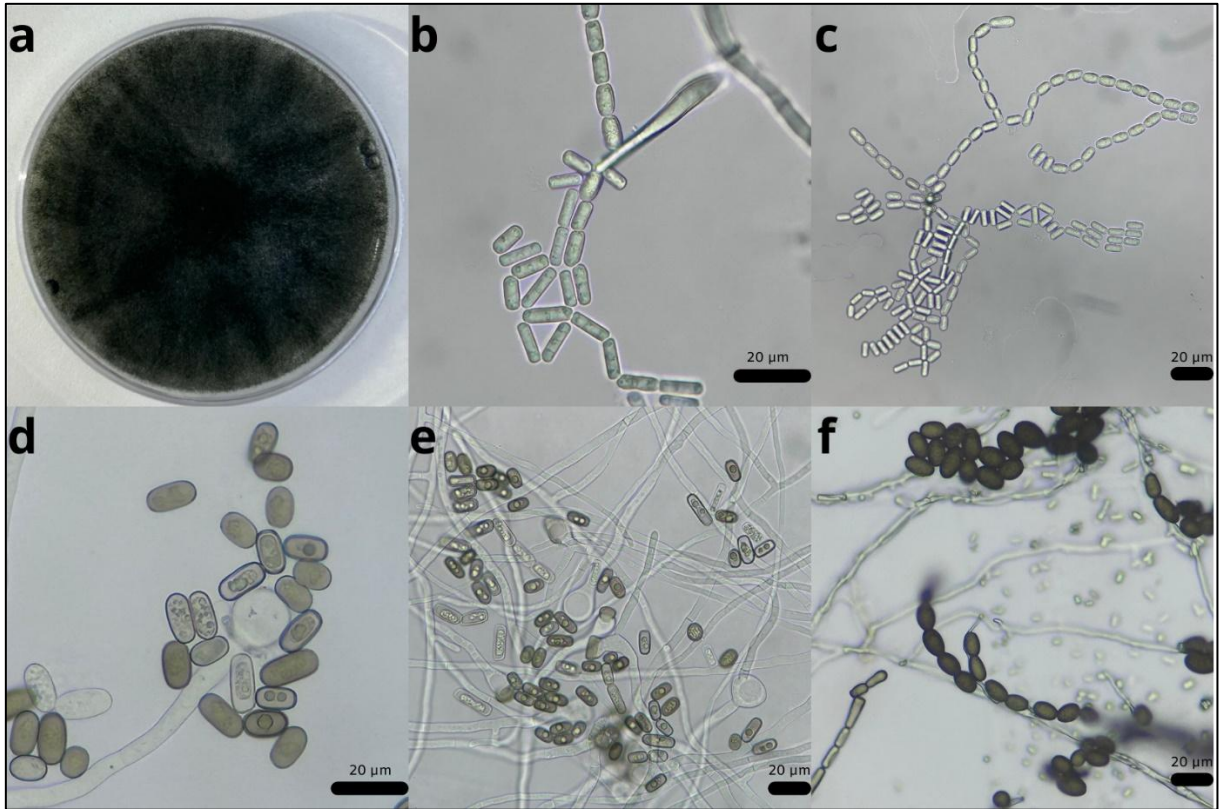


Figura 8: Marcadores morfológicos de *Thielaviopsis musarum* em banana. A. Cultura com 10 dias de idade em BDA.

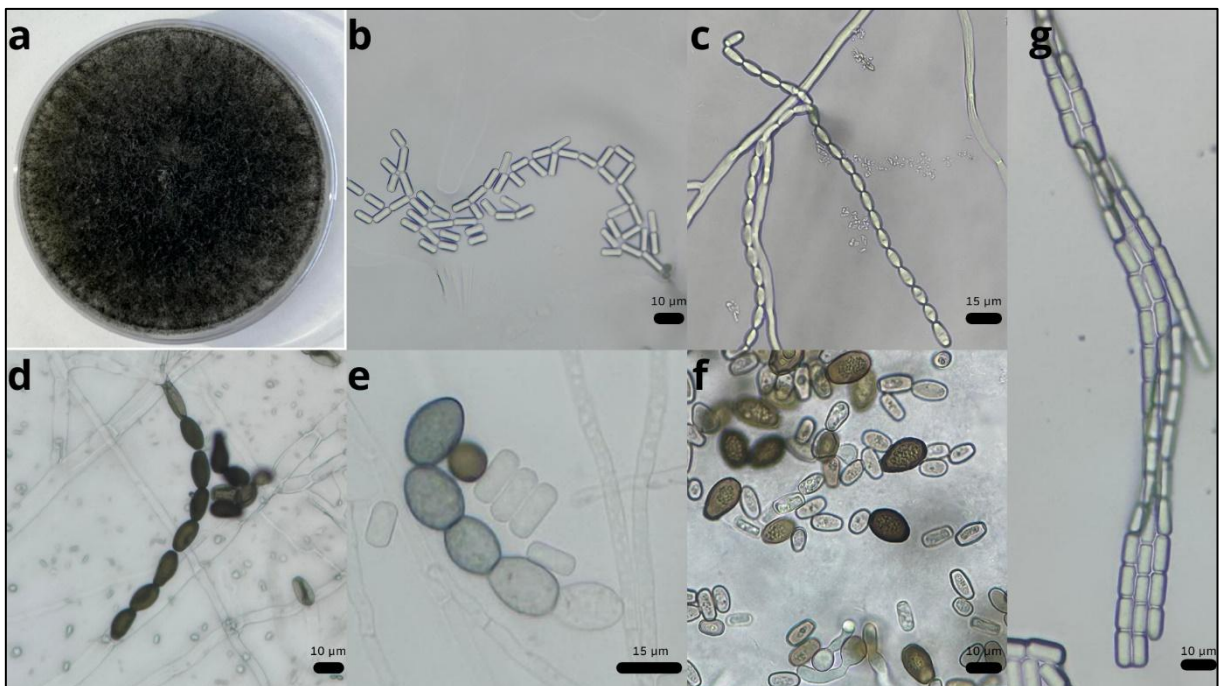


Figura 9: Marcadores morfológicos isolado *Thielaviopsis* sp. nov. (SM 06) em banana. A. Cultura com 10 dias de idade em BDA. a. Cultura com 72 horas de crescimento. b-c-g. conídios primários em cadeia. d. cadeia de aleuroconídios. e. aleuroconídios em formação. f. conídios secundários e aleuroconídios.

4.4 Teste de patogenicidade

Todos os isolados induziram sintomas de podridão nos frutos. No ponto de inserção, foram observados os primeiros sintomas dois (2) dias após a inoculação, com início do escurecimento da casca e degradação do tecido da polpa (Fig. 10). Com o avanço da doença, observou-se a formação de micélio no ponto de inoculação, além do desprendimento da casca do fruto. Nos frutos-testemunha, não foi observado sintoma da doença. Os isolados fungicos reisolados dos frutos inoculados apresentaram marcadores morfológicos semelhantes aos isolados inoculados, confirmando assim todas as etapas do postulado de Koch. Nos frutos inoculados sem ferimento, não foram observados sintomas da doença, bem como não foi possível o reisolamento fúngico.

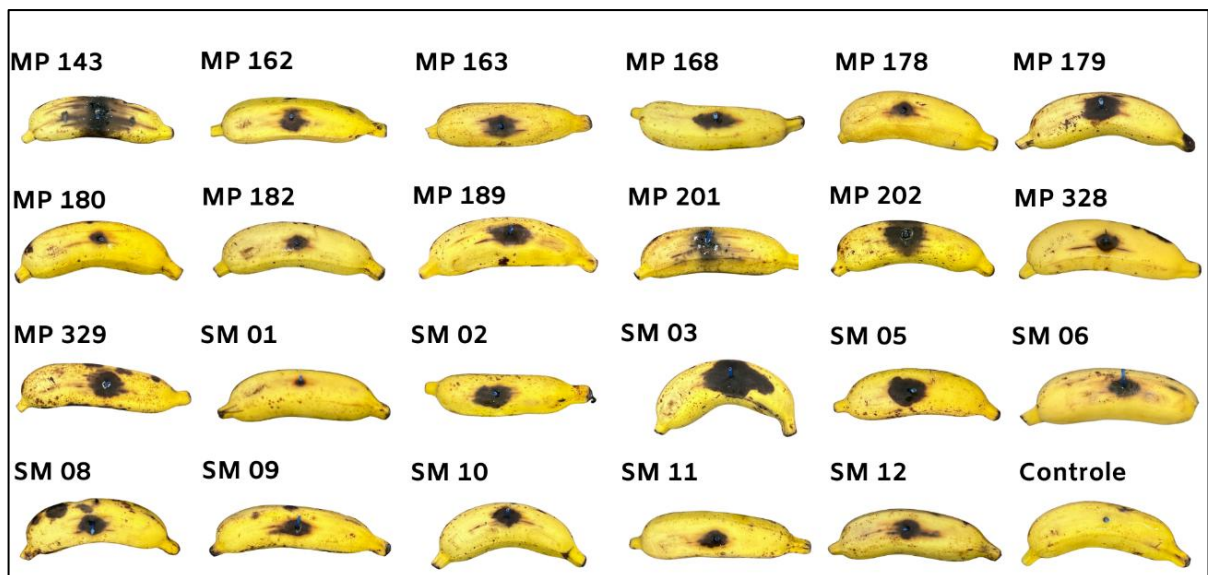


Figura 10: Resultados de teste de patogenicidade: Frutos de banana com sintomas de podridão após o teste de patogenicidade de 23 isolados de *Thielaviopsis* spp. com ferimento. Testemunha não inoculada (Controle).

Com base na Área Abaixo da Curva do Progresso da Doença (AACPD), foi possível classificar os isolados em sete (7) grupos de agressividade (Fig. 11). O isolado MP 143 (*Thielaviopsis ethacetica*) proporcionou maior valor de AACPD (16,04) e, portanto, foi classificado como mais virulento. O isolado SM 01 foi o isolado com menor AACPD (3,13). Frutos-testemunha não apresentaram desenvolvimento da doença.

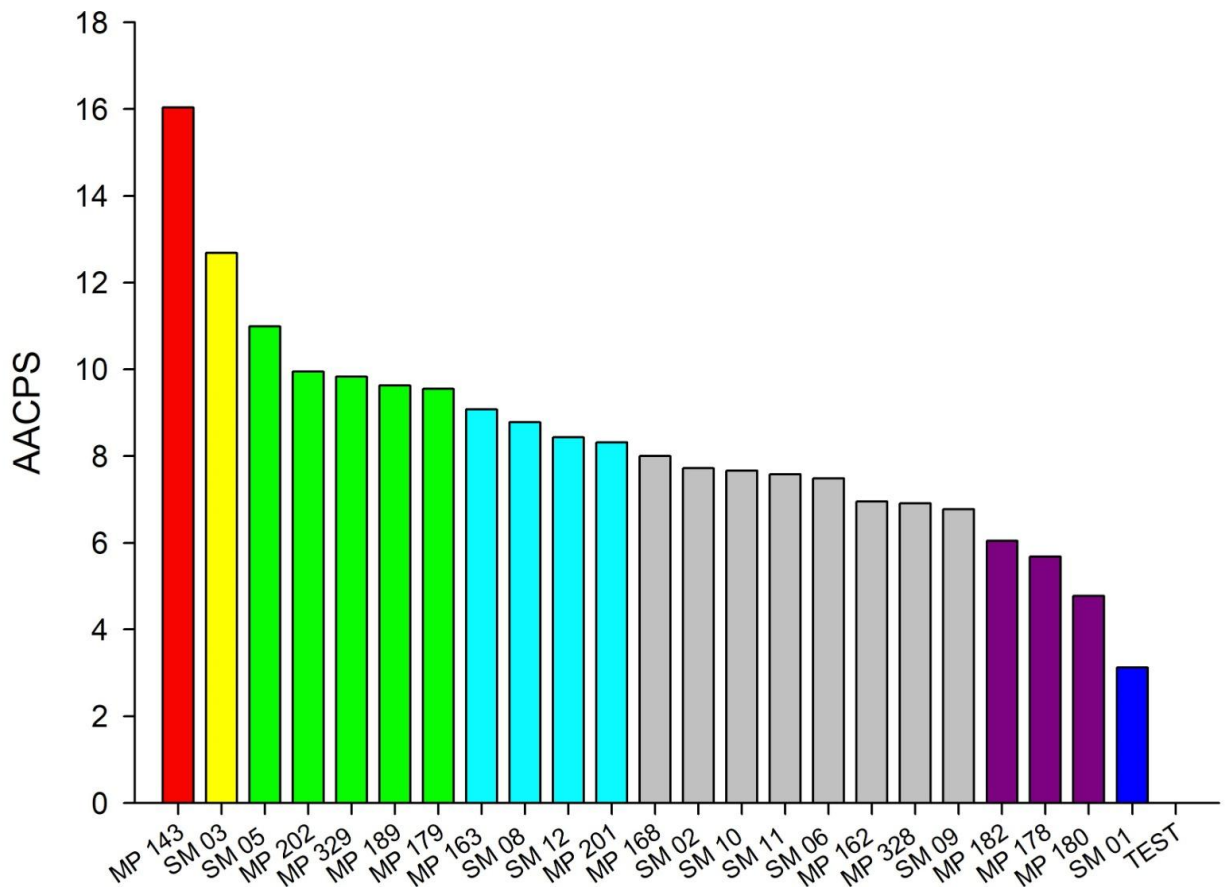


Figura 11: Gráfico representando a agressividade dos isolados no teste de patogenicidade com ferimento de acordo com a área abaixo da curva do progresso da severidade da doença. Cores diferentes indicam diferença estatística. ($P < 0,05$)

4.5 Influência da temperatura, água e fotoperíodo no desenvolvimento da doença

Nos resultados do teste de influência da temperatura, água (presença ou ausência) e fotoperíodo para o desenvolvimento da doença, houve interação tripla significativa entre os fatores. Em todas as condições de incubação, os isolados fúngicos induziram sintomas, diferindo entre si quanto à severidade da doença ao longo do tempo. Para as condições de armazenamento em 15°C e 20°C, independente da presença ou ausência de água e do fotoperíodo, não houve diferença estatística quanto à severidade da doença. Para as condições de incubação na temperatura de 20 °C, o fungo causou pequenas lesões na casca e houve a colonização dos tecidos da polpa (Tab. 3).

Tabela 3. Resultado da interação entre os fatores presença ou ausência de água, temperatura e fotoperíodo

Temperatura	15°C		20°C		25°C		30°C	
	12h	Escuro	12h	Escuro	12h	Escuro	12h	Escuro
Com água	7,8	13,2	15,3	55,5	209,6 a	218,53 a	202,6 bB	395,4 aA
Sem água	12	11,1	40,2	45	167,4 bA	98 bB	246,3 a	238,1 b

Letras minúsculas indicam análises dentro da coluna. Letras maiúsculas indicam análises de linhas. Análises sem letras indicam semelhança estatística.

Para as condições de armazenamento a 25°C sob o fotoperíodo de 12 horas ou escuro, houve diferença estatística significativa ($P < 0,05$) na severidade da doença ao longo do tempo nos frutos incubados com água ou sem água. Na presença de água, em ambos os fotoperíodos a intensidade da doença foi maior. Não houve diferença estatística no tamanho da lesão quando os frutos foram incubados em fotoperíodos de escuro ou 12 horas e presença de água. No entanto, quando os frutos foram incubados a 25 °C, na ausência de água, o fotoperíodo de 12 horas condicionou maior desenvolvimento da doença em relação ao fotoperíodo escuro.

Na temperatura de 30°C, houve diferença estatística significativa na severidade da doença nos frutos submetidos ao fotoperíodo de 12 horas e ausência de água, em comparação com presença de água. No fotoperíodo escuro, as condições de presença de água influenciaram mais na severidade quando em comparação à ausência. Não houve diferença do tamanho da lesão comparando os fotoperíodos na ausência de água.

Houve relação linear entre a temperatura de incubação e intensidade da doença ao longo do tempo (Fig. 12). Dessa forma, quanto maior a temperatura de armazenamento, maior foi o desenvolvimento da doença, independentemente da presença ou ausência de água e independentemente do fotoperíodo.

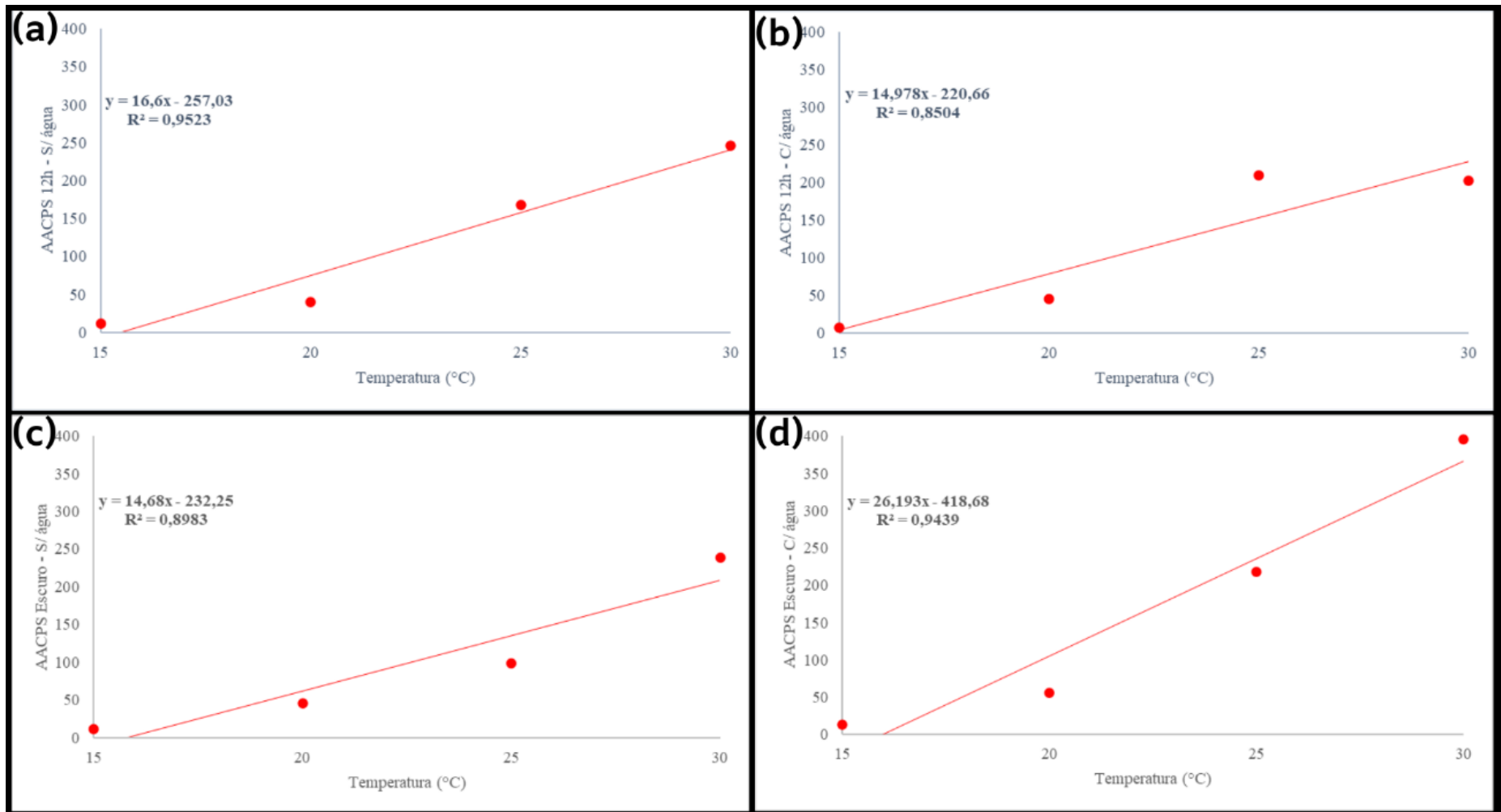


Figura 12: Área Abaixo da Curva do Progresso da Severidade da podridão da coroa (*Thielaviopsis ethacetica*) em frutos de banana inoculados e armazenados em condições de temperaturas de 15°C, 20°C, 25°C e 30°C sob presença e ausência de água e fotoperíodo 12 horas e escuro: (a) AACPS para fotoperíodo 12 horas sem umidade. (b) AACPS para fotoperíodo 12 horas com umidade. (c) AACPS para escuro sem umidade. (d) AACPS para escuro com umidade.

4.6 Influência da abertura ou fechamento da embalagem no desenvolvimento da doença em diferentes condições de temperatura e fotoperíodo

Houve interação tripla significativa entre os fatores temperatura, fotoperíodo e forma de acondicionamento dos frutos (caixa aberta ou fechada). Em todas as condições de incubação, o fungo induziu sintomas, diferindo apenas no progresso da severidade da doença ao longo do tempo. Nas condições de incubação de temperatura 15°C e 20°C, não houve diferença significativa entre AACPS quando os frutos foram armazenados em caixa aberta ou fechada no fotoperíodo de 12 horas ou escuro (Tabela 4).

Tabela 04. Resultado da interação entre os fatores caixa fechada ou aberta, temperatura e fotoperíodo sem água

Temperatura	15°C		20°C		25°C		30°C	
	12h	Escuro	12h	Escuro	12h	Escuro	12h	Escuro
Caixa Fechada	12	11,1	40,2	45	167,4 aA	102 aB	242,9 a	234,8 a
Caixa Aberta	5,4	5,7	28,5	41,4	57 b	60 b	123 bB	211,9 bA

Letras minúsculas indicam análises dentro da coluna. Letras maiúsculas indicam análises de linhas. Análises sem letras indicam semelhança estatística.

Para as condições de armazenamento a 25°C sob o fotoperíodo de 12h ou escuro, houve diferença estatística significativa no tamanho da lesão dos frutos incubados em caixas abertas ou fechadas. Na embalagem fechada, em ambos os fotoperíodos, as médias foram maiores em comparação com a embalagem aberta. Não houve diferença estatística quando os frutos foram incubados nas condições de 25°C, fotoperíodos de escuro ou 12 horas e caixa aberta. No entanto, sob as condições de 25°C, fotoperíodos de 12 horas ou escuro e caixa fechada, o fotoperíodo de 12 horas proporcionou maior desenvolvimento da doença quando comparado ao fotoperíodo escuro.

Nas condições de incubação para temperatura de 30°C, fotoperíodo de 12 horas ou escuro, houve diferença significativa entre os frutos incubados em caixa aberta ou fechada. Na embalagem fechada, o tamanho médio da lesão foi maior em ambos os fotoperíodos. Não houve diferença estatística entre os frutos que foram incubados nas condições de 30°C, fotoperíodos de escuro ou 12 horas, com a embalagem fechada. Porém, para a embalagem aberta, houve diferença significativa com o escuro, proporcionando maior desenvolvimento da doença quando comparado com o fotoperíodo de 12 horas.

Observou-se relação linear entre a temperatura de incubação e a intensidade da doença ao longo do tempo (Fig. 13). Dessa forma, quanto maior a temperatura de

armazenamento, maior foi o desenvolvimento da doença. Nos frutos acondicionados na caixa fechada, houve formação e manutenção da umidade relativa em decorrência da fisiologia do hospedeiro, ocasionando o avanço da maturação e, conseqüentemente, favoreceu a colonização do patógeno, resultando em maior severidade quando em comparação com frutos acondicionados em caixas abertas.

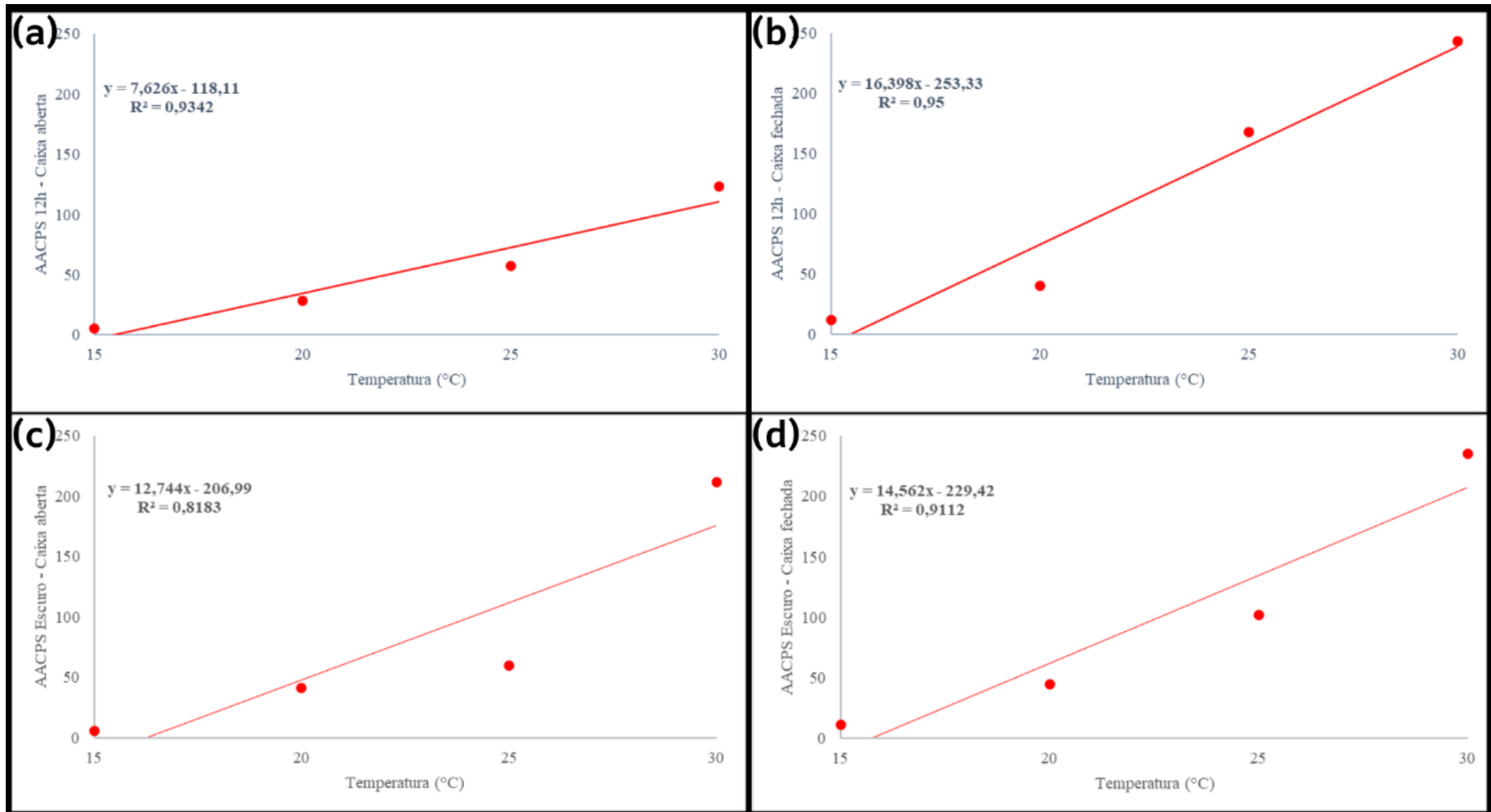


Figura 13: Área Abaixo da Curva do Progresso da Severidade da podridão da coroa (*Thielaviopsis ethacetica*) em frutos de banana inoculados e armazenados em condições de temperaturas de 15°C, 20°C, 25°C e 30°C sob embalagem aberta ou fechada e fotoperíodo de 12 horas e escuro: (a) AACPS para fotoperíodo 12 horas com embalagem aberta. (b) AACPS para fotoperíodo 12 horas com embalagem fechada. (c) AACPS para escuro com embalagem aberta. (d) AACPS para escuro com embalagem fechada

5 DISCUSSÃO

Os isolados obtidos dos frutos de banana pertencem às espécies *Th. musarum*, *Th. Ethacetica*, e uma nova linhagem filogenética do complexo *Thielaviopsis paradoxa*. *Th. Musarum* foi relatada apenas na Nova Zelândia e Brasil, demonstrando assim que até o momento esta espécie apresenta baixa distribuição geográfica (Melo et al., 2016; Mbenoun et al., 2014). Este estudo refuta, portanto, todos os registros da associação de *Th. paradoxa* associado à podridão da coroa em frutos de banana, especialmente os relatos do Brasil, onde os isolados são denominados como sendo *Th. paradoxa*. As identificações destes relatos são duvidosas, porque os autores identificaram os isolados utilizando apenas os marcadores morfológicos (Mendes et al., 1998).

O resultado desta pesquisa reforça a importância do uso de ferramentas de biologia molecular na identificação de *Thielaviopsis*, pois, morfológicamente, acreditava-se na representação de todos os isolados como *Th. musaraum*. Nos estudos pioneiros de Mbenoun e colaboradores, *Th. paradoxa* s. stric é pouco comum. É muito provável a presença de *Th. ethacetica* em isolados anteriormente descritos como *Th. paradoxa*. (Mbenoun et al., 2014).

Mundialmente, estudos envolvendo identificação de *Thielaviopsis* em frutos de banana são escassos e muitas identificações foram realizadas aplicando apenas o conceito de espécie morfológica, técnica passível de falhas para identificação de fungos desse gênero. A taxonomia do gênero é resolvida exclusivamente com o uso de ferramentas de biologia molecular. Mbenoun et al. (2014) & deBeer et al. (2015), com uma coleção de isolados de *Thielaviopsis* de diferentes regiões geográficas e de diferentes hospedeiros, com base em filogenia de regiões gênicas conservadas, realizaram o desmembramento de *Th. paradoxa* em seis espécies filogeneticamente distintas, sendo atualmente chamado de complexo "*Th. paradoxa*".

O fato de isolados de *Th. musarum* terem sido encontrados em três (3) regiões geográficas distintas, indica sua distribuição em várias regiões geográficas do Brasil, podendo ter sido disseminados durante os processos de domesticação de *Musa* spp. ou por meio do transporte de frutos para comercialização. Nos últimos anos, foi relatado o aumento de doenças causadas por *Th. ethacetica* em diversos hospedeiros na República de Camarões, e os autores hipotetizaram a relação entre o patógeno e ações antrópicas, como tratados culturais e transporte de material propagativo para diferentes regiões daquele país (Mbenoun et al. 2014; Mbenoun et al. 2015).

A associação de *Thielaviopsis* em frutos de banana no Brasil é registrada desde 1950, com relatos de fungos fitopatogênicos causadores de podridão em frutos e podridão na coroa. No entanto, apesar de diversos relatos, as identificações desses fitopatógenos em nível de

espécie são falhas, pois, nos processos de identificação foram avaliadas apenas as características morfológicas dos patógenos, insuficientes para caracterização em nível de espécie.

A associação de *Th. paradoxa* com danos severos pós-colheita em frutos de banana é registrada desde 1937 na Austrália (Michell et al., 1937). Apesar de *Th. musarum* ser conhecido até o momento como um patógeno específico em plantas de *Musa* spp., *Th. ethacetica* é uma espécie cosmopolita com ampla distribuição geográfica em diferentes países tropicais, causando doença em diversas espécies de plantas, especialmente frutíferas como coqueiro, cacaueiro, pupunheira e abacaxizeiro (Mbenoun et al., 2014, Mbenoun et al., 2015; Rocha et al., 2024).

O isolado SM 06 representante de uma nova linhagem filogenética do complexo *Th. paradoxa* agrupou na clado II, no qual se encontram as espécies *Th. paradoxa* s.stric e *Th. Euricoi*. Ambas possuem conidióforos do tipo sinemata como marcador morfológico. Apesar de ser um complexo representado por poucos indivíduos, a existência de novas espécies associadas a plantas de interesse agrônômico é muito provável. Exemplo disso, a descoberta de uma nova linhagem causando podridão no estipe em palmeiras na Califórnia. Este resultado reforça a hipótese de Mbenoun e colaboradores, sobre a existência de possíveis novas espécies de *Thielaviopsis*, especialmente, em países tropicais (Mbenoun et al., 2014).

As espécies do complexo *Th. paradoxa* possuem grande plasticidade morfológica das estruturas assexuais, conseqüentemente, isso proporcionou erros taxonômicos durante muitos anos. Como exemplo, *Th. paradoxa* s. scrt passou por alterações de nomes, inicialmente denominado como *Spororischima paradoxum*, *Ceratocystis paradoxa* e *Chalara paradoxa*. No entanto, esta confusão taxonômica foi resolvida com o uso de ferramentas de biologia molecular (Mbenoun et al., 2024, De Beer et al., 2015).

A principal razão de a doença ocorrer apenas em frutos maduros pode estar relacionada à presença de altas concentrações de taninos nos frutos verdes, substância inibidora da colonização do fungo. De acordo com a ocorrência da maturação, há a redução dessas substâncias nos frutos, além do aumento de sólidos solúveis, favorecendo a colonização dos patógenos. No patossistema antracnose x *Colletotrichum* spp. em frutos de banana, os sintomas se apresentam após o início da maturação. O aumento das podridões nos frutos maduros está associado ao processo de amadurecimento, momento de aumento da taxa de açúcares e na redução de taninos, condições propícias à colonização dos patógenos. Outras características, como a idade dos frutos, expressa em Graus-Dia (GD), podem influenciar no avanço da podridão da coroa (Lassois et al., 2010).

No teste de patogenicidade, todos os isolados foram patogênicos quando inoculados com ferimentos. Além de colonizar a casca do fruto, o fungo colonizou a polpa, depreciando os frutos. No entanto, foram observados diferentes níveis de agressividade entre os isolados.

Possivelmente, devido às características genéticas dos isolados, produzem diferentes quantidades de enzimas relacionadas à patogênese. A maioria dos patógenos pós-colheita associados à podridão da coroa possuem a capacidade de degradar tecidos da polpa. Além disso, esses patógenos são produtores de enzimas líticas, conseqüentemente, os frutos apodrecem rapidamente devido ao curto período de incubação. Dentre esses patógenos, destacam-se *Colletotrichum* spp, *Fusarium musae*, *Fusarium verticillioides* e *Lasiodiplodia* spp (Lassois et al., 2010, Van Höve et al., 2010, Hirata et al., 2001).

Nas inoculações sem realizar ferimentos na casca do fruto, os isolados não causaram podridão, caracterizando a possibilidade de a espécie *Th. ethacetica* não produzir enzimas líticas para degradar os tecidos superficiais da casca como cutícula e/ou epiderme. Este resultado reforça a necessidade, para técnicos e agricultores, da importância de não realizar ferimentos nos frutos durante os processos de colheita, transporte e armazenamento. Pesquisa demonstrou nos processos de colheita, ao realizar cortes do tecido da coroa, esporos de fungos podem penetrar nestes ferimentos e iniciar os processos de infecção, podendo, portanto, colonizar os pedicelos e frutos, tornando os frutos impróprios para o consumo (Klauss & Johanson 2024).

Neste estudo, temperaturas mais elevadas favoreceram o progresso da podridão em frutos de banana. Estudos realizados anteriormente demonstraram o aumento da incidência e severidade quando frutos de banana são armazenados e transportados em temperaturas acima de 16°C (Slabauagh & Grove, 1982). Isso deve-se à temperatura acelerar os processos de maturação dos frutos, havendo a redução de taninos, inibidores da colonização de patógeno pós-colheita. Além disso, temperaturas acima de 20°C podem interferir também no metabolismo do fungo, potencializando sua máxima atividade patogênica.

Nas condições de 25°C, com presença de água, há um favorecimento da germinação de esporos do patógeno, além de facilitar os processos metabólicos do patógeno e do fruto. Em condições de cultivos, os frutos de banana colhidos em condições de alta precipitação e temperatura possuem maior incidência e severidade da podridão da coroa, podendo atingir 10% de perdas (Lassois et al., 2010).

Foi observada menor severidade estatisticamente significativa no tratamento 30°C + fotoperíodo de 12 horas + presença de água em comparação com o tratamento 30 °C + fotoperíodo de 12 horas + ausência de água. A presença de água livre parece dificultar a perda transpiratória do fruto, retardando assim a sua maturação, garantindo a presença de taninos por mais tempo. Além disso, em outros estudos, quando frutos de banana foram armazenados em condições de baixa umidade relativa, produzem menos etileno na casca dos frutos (Peacock, 1973), retardando, portanto, o amadurecimento do fruto e conseqüente suscetibilidade ao patógeno.

Os frutos incubados no escuro apresentaram lesões maiores em relação aos frutos incubados em fotoperíodo de 12 horas. O metabolismo do fungo possivelmente sofreu influência do fotoperíodo, obtendo maior desenvolvimento no fotoperíodo escuro quando em comparação com fotoperíodo de 12 horas.

Apesar da podridão da coroa ser um problema fitossanitário comum, pouco se conhece sobre a interação de *Th. musarum* em frutos de banana e com as condições de armazenamento. A primeira e única pesquisa realizada sobre esta interação foi feita em 1962. Nesta, fatores como alta umidade (acima de 60%), temperaturas moderadas (acima de 18°C) e ausência de luz potencializam o desenvolvimento da doença causada por *Th. musarum* (Riedl, 1962). A forma de armazenamento dos frutos é outro fator importante no progresso da podridão dos frutos. Em condições de recipientes fechados, houve aumento da doença em relação a recipientes abertos, provavelmente devido ao acúmulo de água, gases como oxigênio e etileno, ambos precursores da maturação, e conseqüentemente favorecendo os processos de infecção de espécies de *Thielaviopsis*.

Além de confirmar *Th. musarum* como principal agente etiológico da podridão da coroa pós-colheita, esta pesquisa revela a melhor forma de reduzir o progresso da podridão causada por *Th. ethacetica* em frutos de banana: armazenando os frutos em temperaturas inferiores a 20°C, possibilitando, conseqüentemente, maior tempo de comercialização e tempo de transporte.

6 CONCLUSÕES

Thielaviopsis musarum é o principal agente etiológico causador da podridão da coroa em frutos de banana no Meio-Norte brasileiro.

É o primeiro relato de ocorrência de *Thielaviopsis ethacetica* associado à podridão da coroa em frutos de banana no Brasil.

Este estudo revela uma nova linhagem filogenética do complexo *Thielaviopsis paradoxa* associado à podridão da coroa em frutos de banana no Brasil.

Todos os isolados deste estudo causam podridão em frutos de banana, quando inoculados após ferimento, porém com diferentes níveis de agressividade.

Os fatores água, temperatura e fotoperíodo influenciam no progresso da podridão em frutos de banana.

Frutos armazenados em recipientes abertos, sob temperaturas abaixo de 20°C, apresentam menor severidade em relação a frutos armazenados em recipientes fechados.

7 REFERÊNCIAS

- ALAKONYA, A. E. et al. Progress in understanding *Pseudocercospora* banana pathogens and the development of resistant *Musa* germplasm. **Plant Pathology**, v. 67, n. 4, p. 759-770, fev. 2018.
- AL-HINDI, R.; AL-NAJADA, A.; MOHAMED, S. A. Isolation and identification of some fruit spoilage fungi: Screening of plant cell wall degrading enzymes. **Semantic Scholar**, 2011.
- AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (Eds.) **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 4. ed. p. 19-36. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2011.
- Banana peels | Feedipedia**. Disponível em: <<https://www.feedipedia.org/node/684>>.
- CÉCILE ANNIE EWANÉ et al. The susceptibility of bananas to crown rot disease is influenced by geographical and seasonal effects. v. 35, n. 1, p. 27–36, 1 jan. 2013.
- CHILLET, M.; LAPEYRE, L. D. Elaboration de la qualité des bananes au champ. Détermination de critères de mesure. **Fruits**, v. 51, n. 5, p. 317–326, 1 jan. 1996.
- CORDEIRO, Z. J. M. Banana. Produção: aspectos técnicos. **Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia**. p. 143, jun. 2000.
- COSTA, Edson Magalhães et al. Uso de deep learning para reconhecimento de doenças em bananicultura no município de Paragominas/pa. **Revista de Ciências Agrárias Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 67, p. 1-12, 2024.
- DAMASCENO, C. L. et al. Postharvest biocontrol of anthracnose in bananas by endophytic and soil rhizosphere bacteria associated with sisal (*Agave sisalana*) in Brazil. **Biological Control**, v. 137, p. 104016, 1 out. 2019.
- DAMIANI, C.; DE, A.; FERNANDA SALAMONI BECKER. **Aproveitamento de resíduos vegetais: potenciais e limitações**. 18 dez. 2020.
- DE BEER, Z. W. et al. Redefining *Ceratocystis* and allied genera. **Studies in Mycology**, v. 79, p. 187–219, set. 2014.
- DROBY, S. et al. Twenty years of postharvest biocontrol research: Is it time for a new paradigm? **Postharvest Biology and Technology**, v. 52, n. 2, p. 137–145, maio 2009.
- EWANÉ, C. A. et al. The susceptibility of bananas to crown rot disease is influenced by geographical and seasonal effects. **Canadian Journal of Plant Pathology**. v. 35, n. 1, p. 27–36, 1 jan. 2013.
- FAO, **Banana factors**. Disponível em: <https://www.fao.org/economic/est/est-commodities/oilcrops/bananas/bananafacts/en/#.ZBQtL3ZBzIV>.
- FAOSTAT. **FAOSTAT**. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 27 jun. 2024.
- FERNANDES, E. G.; LEAL, P. A. M.; SANCHES, J. Climatização e armazenamento refrigerado na qualidade pós-colheita de bananas “nanicão”. **Bragantia**, v. 69, p. 735–744, 2010.

FRANÇA, K.R.S. et al. First report of *Lasiodiplodia hormozganensis* and *Lasiodiplodia laeliocattleyae* causing crown rot disease in banana fruits in Brazil. **Crop Protection**, v. 184, p. 106784-106784, 4 jun. 2024.

FU, X.; WONG, A. W.; GUZMAN, M.; GLEASON, M. Battling Black Sigatoka of Banana in Costa Rica. **The Plant Health Instructor**. v. 19, 01 jan. 2019.

GASPAROTTO, L., PEREIRA, J.C.R. & TRINDADE, D.R. Situação atual da Sigatoka negra da bananeira. **Fitopatologia brasileira**. P. 26:449. 1 jan. 2001

HENRY et al. The core fungal microbiome of banana (*Musa* spp.). **Front Microbiology**. v. 14, 30 mar. 2023.

HIKAL, W. M. et al. Banana Peels: A Waste Treasure for Human Being. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2022, n. 7616452, p. 1-9, 13 maio 2022.

HIRATA, T. et al. Morphological and molecular characterization of *Fusarium verticillioides* from rotten banana imported into Japan. **Mycoscience**, v. 42, n. 2, p. 155–166, abr. 2001.

JAHAN, MD. S. et al. Characterization of Crown Rot Disease of Banana Fruit and Eco-Friendly Quality Improvement Approach during Storage. **Microbiology Research Journal International**, p. 1–13, 10 abr. 2019.

KAMEL, M. A. M.; CORTESI, P.; SARACCHI, M. Etiological agents of crown rot of organic bananas in Dominican Republic. **Postharvest Biology and Technology**, v. 120, p. 112–120, out. 2016.

KAMORE, H. K. et al. Prevalence of banana diseases and post-harvest losses in Kenya, and biocontrol potential of arbuscular mycorrhizal fungi against *Fusarium* wilt. **International Journal of Horticultural Science**, 16 jul. 2024.

KRAUSS, U.; JOHANSON, A. Recent advances in the control of crown rot of banana in the Windward Islands. **Crop Protection**, v. 19, n. 3, p. 151–159, abr. 2000.

LANDAU, E. C. et al. Dinâmica da produção agropecuária e da paisagem natural no Brasil nas últimas décadas: produtos de origem vegetal. 1 jan. 2020.

LASSOIS, L. et al. Crown Rot of Bananas: Preharvest Factors Involved in Postharvest Disease Development and Integrated Control Methods. **Plant Disease**, v. 94, n. 6, p. 648-658, jun. 2010.

LIMA, M. B.; SILVA; FERREIRA, C. F. **Banana**: o produtor pergunta, a Embrapa responde. 30 abr. 2013.

MASEKO, K. H. et al. *Musa* species variation, production, and the application of its processed flour: A review. **Scientia Horticulturae**, v. 325, p. 112688, 1 fev. 2024.

MBENOUN, M. et al. Diversity and pathogenicity of the Ceratocystidaceae associated with cacao agroforests in Cameroon. **Plant pathology**. v. 65, n. 1, p. 64–78, 21 maio 2015.

MBENOUN, M. et al. Reconsidering species boundaries in the *Ceratocystis paradoxa* complex, including a new species from oil palm and cacao in Cameroon. **Mycologia**, v. 106, n. 4, p. 757–784, 1 jul. 2014.

MCKNIGHT, K. H.; RAYNER, R. W. A Mycological Colour Chart. **Mycologia**, v. 64, n. 1, p. 230, jan. 1972.

MELO, M. P. et al. *Thielaviopsis musarum* causes postharvest crown and fruit rot of banana in Northeastern Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 41, n. 4, p. 258–263, 24 jun. 2016.

MENDES, M.A.S., Silva, V.L., Dianese, J.C., Ferreira, M.A.S.V., Santos., C.E.N., Gomes Neto, E., Urben, A.F., Castro., C. (1998). Fungos em Plantas no Brasil. Embrapa-SPI, **Embrapa Cenargem**, Brasília

MITCHELL, R. S. Stem end rot of bananas with special reference to the physiological relationships of *Thielaviopsis paradoxa* (De Seynes) Von Höhn. **Journal of the Council for Scientific and Industrial Research**, v. 10, p. 123–135, 21 nov. 1937.

MOHD ZAINI, H. et al. Banana peels as a bioactive ingredient and its potential application in the food industry. **Journal of Functional Foods**, v. 92, n. 105054, p. 105054, 1 maio 2022.

MÖLLER, E. M. et al. A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies, and infected plant tissues. **Nucleic Acids Research**, v. 20, n. 22, p. 6115–6116, 1992.

Morgan-Jones G. *Ceratocystis paradoxa*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. **Surrey England. Commonwealth Mycological Institute**. n. 143. 1967.

PAWAR, S.; RATHOD, G.; MANJUNATHA NANJUNADAPPA. Characterization and Management of Post-harvest Fungal Diseases in Banana (*Musa paradisiaca*). **Journal of Advances in Biology & Biotechnology**, v. 27, n. 8, p. 1093–1103, 7 ago. 2024.

PEACOCK, B. C. 1973. Effect of *Colletotrichum musae* infections on the preclimacteric life of bananas. **Queensl. J. Agric. Anim. Sci.** 30:239-246.

PLOETZ, R. C. Panama disease: Return of the first banana menace. **International Journal of Pest Management**, v. 40, n. 4, p. 326–336, jan. 1994.

R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. **R Foundation for Statistical Computing**. 2024.

RISELY, A. Applying the core microbiome to understand host-microbe systems. **Journal of Animal Ecology**, 5 abr. 2020.

ROBINSON, J. C.; VICTOR GALAN SAUCO. **Bananas and plantains**. Wallingford: Cabi, 2011.

RONQUIST, F. et al. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space. **Systematic Biology**, v. 61, n. 3, p. 539-542, 22 fev. 2012.

SANTOS et al. Fruticultura nordestina: desempenho recente e possibilidades de políticas. **Banco do Nordeste do Brasil**, 2007. (Documentos do ETENE, n. 15).

SANTOS, J.E.A., et al. First Report of *Lasiodiplodia brasiliensis* causing crown rot on banana in Brazil. **Plant Disease**, v. 107, n. 8, p. 2538-2538, 1 ago. 2023.

SILVA et al. First Report of *Lasiodiplodia iraniensis* Causing Crown Rot on Banana Fruits in Brazil. **Plant disease**, v. 107, n. 10, p. 3315–3315, 1 out. 2023.

- SILVA, Débora Cristina da. Fungos causadores de podridões pós-colheita em bananas e severidade da antracnose em unidades de beneficiamento no Cariri Cearense. **UFAL**. f. 73. 2022.
- SLABAUGH, W. R., and Grove, M. D. 1982. Postharvest diseases of bananas and their control. **Plant Disease**. 66:746-750.
- THOMPSON, J. D.; HIGGINS, D. G.; GIBSON, T. J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**, v. 22, n. 22, p. 4673–4680, 1994.
- VALMAYOR, R V., et al. Banana cultivar names and synonyms in South Asia. **INIBAP**, n. 48 p. 55-65. 2000.
- VALMAYOR, R. V. et al. **Banana cultivar names and synonyms in Southeast Asia**. [s.l.: s.n.].
- VAN HOVE, F. et al. *Gibberella musae* (*Fusarium musae*) sp. nov., a recently discovered species from banana is sister to *F. verticillioides*. **Mycologia**, v. 103, n. 3, p. 570–585, maio 2011.
- VIDAL, M. F. Fruticultura. **Caderno Setorial ETENE**, a. 9, n. 337, mai. 2024.
- Vieira WAS, Lima WG, Nascimento ES, Michereff SJ, Câmara MPS, Doyle VP. The impact of phenotypic and molecular data on the inference of *Colletotrichum* diversity associated with Musa. **Mycologia**. v. 109 n. 6. p. 912-934. 1 mar. 2018.
- WAHOME, C. N. et al. Banana Production Trends, Cultivar Diversity, and Tissue Culture Technologies Uptake in Kenya. **International Journal of Agronomy**, v. 20, p. 1–11, 16 fev. 2021.
- WAHYUDI, D.; USLAN; KHAFIDHOTUR RIFLIYAH. Genome evaluation of banana cultivars based on morphological character and Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) molecular marker. **Biodiversitas Journal of Biological Diversity**, v. 21, n. 7, 10 jun. 2020.
- WHITE, T.J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J.W. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds) PCR protocols: a guide to methods and applications. **Academic Press**, v. 37, n. 1, p. 315-322. 1 jan. 1990.
- XIE, L. et al. Proteomic and physiological analysis provides an elucidation of *Fusarium proliferatum* infection causing crown rot on banana fruit. **Microbiological Research**, v. 256, p. 126952, mar. 2022.

APÊNDICE

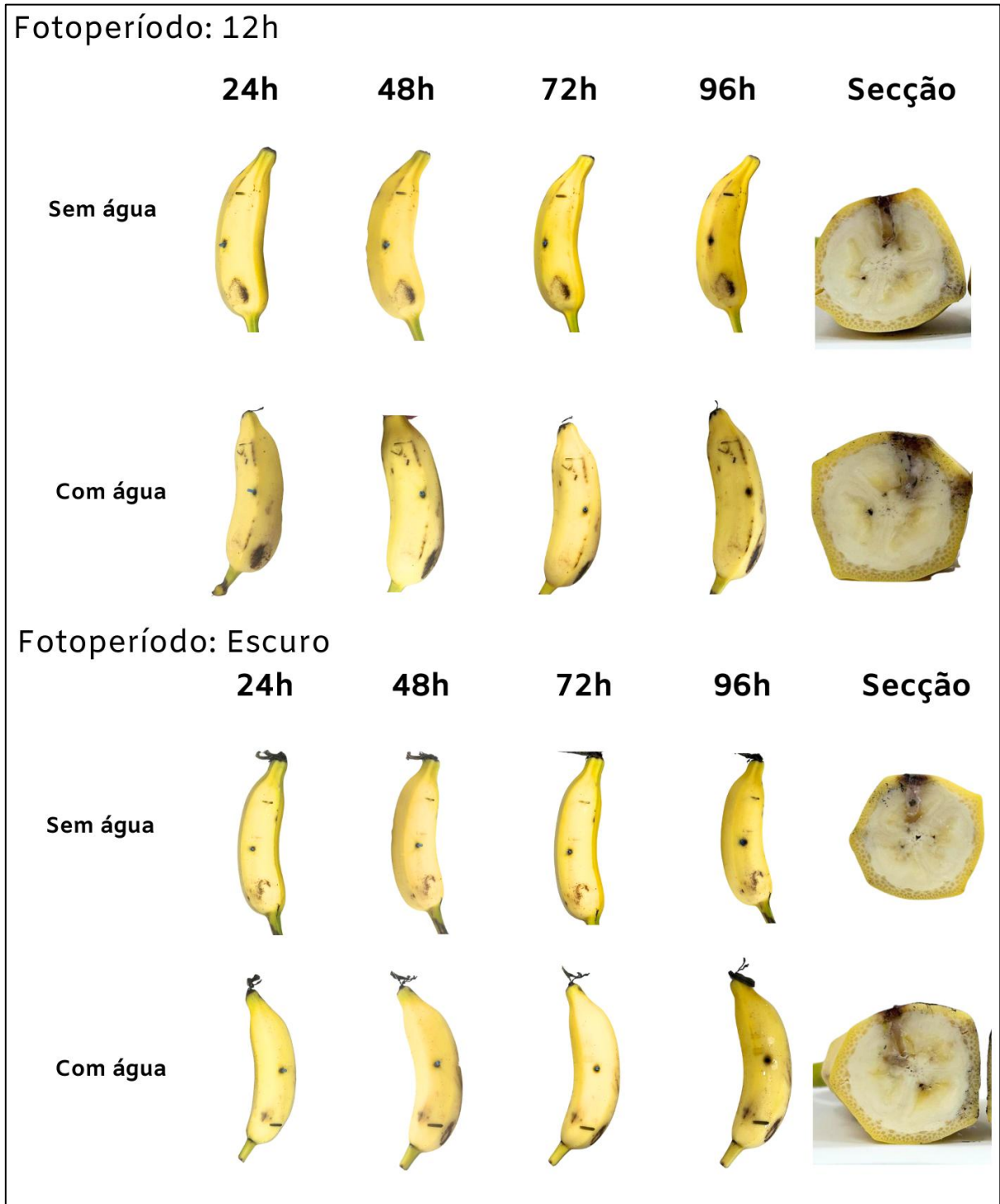


Figura 11: Desenvolvimento da doença em frutos de banana armazenados a 15°C sob diferentes fotoperíodos e presença ou ausência de água na embalagem.

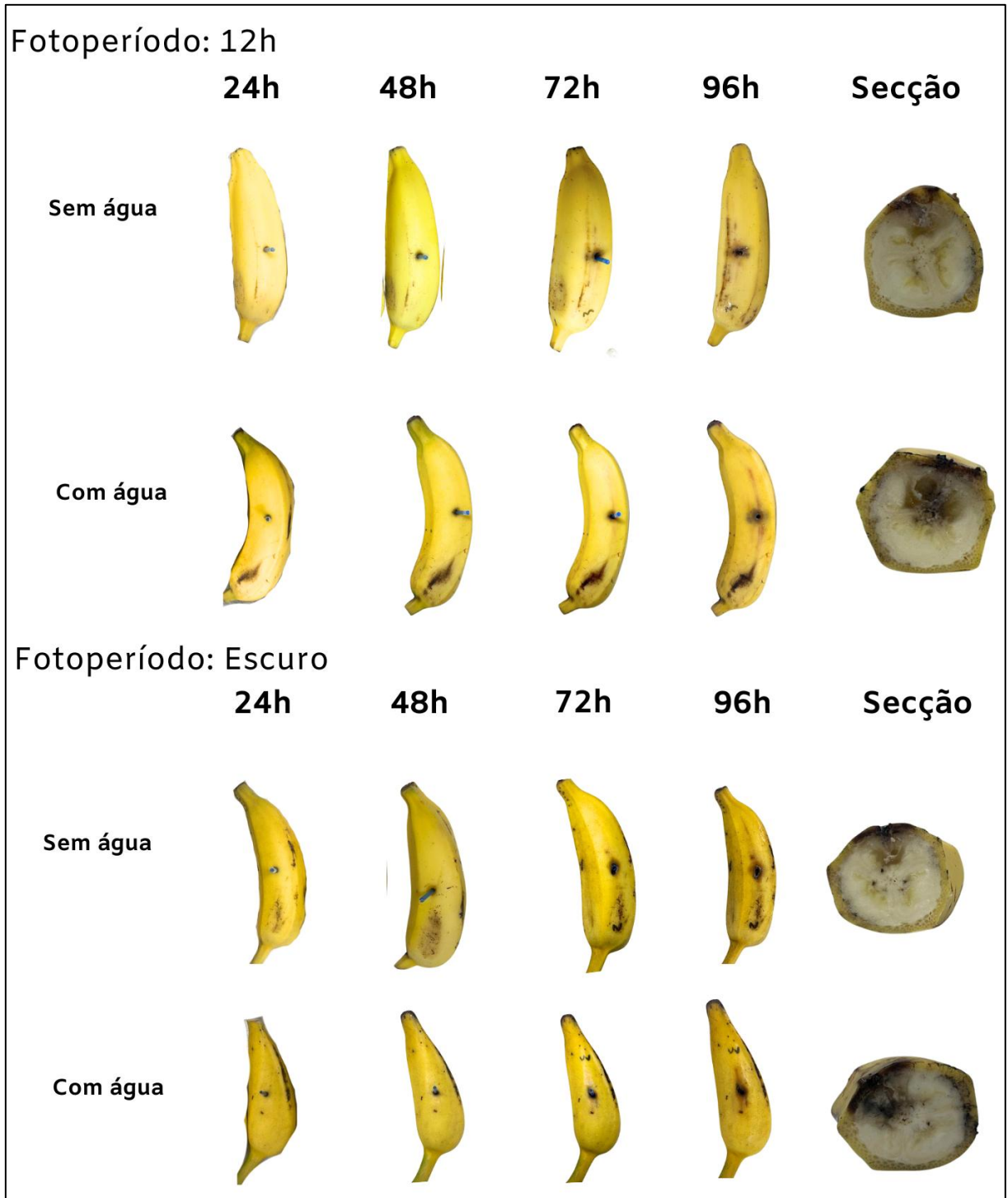


Figura 12: Desenvolvimento da doença em frutos de banana armazenados a 20°C sob diferentes fotoperíodos e presença ou ausência de água na embalagem.

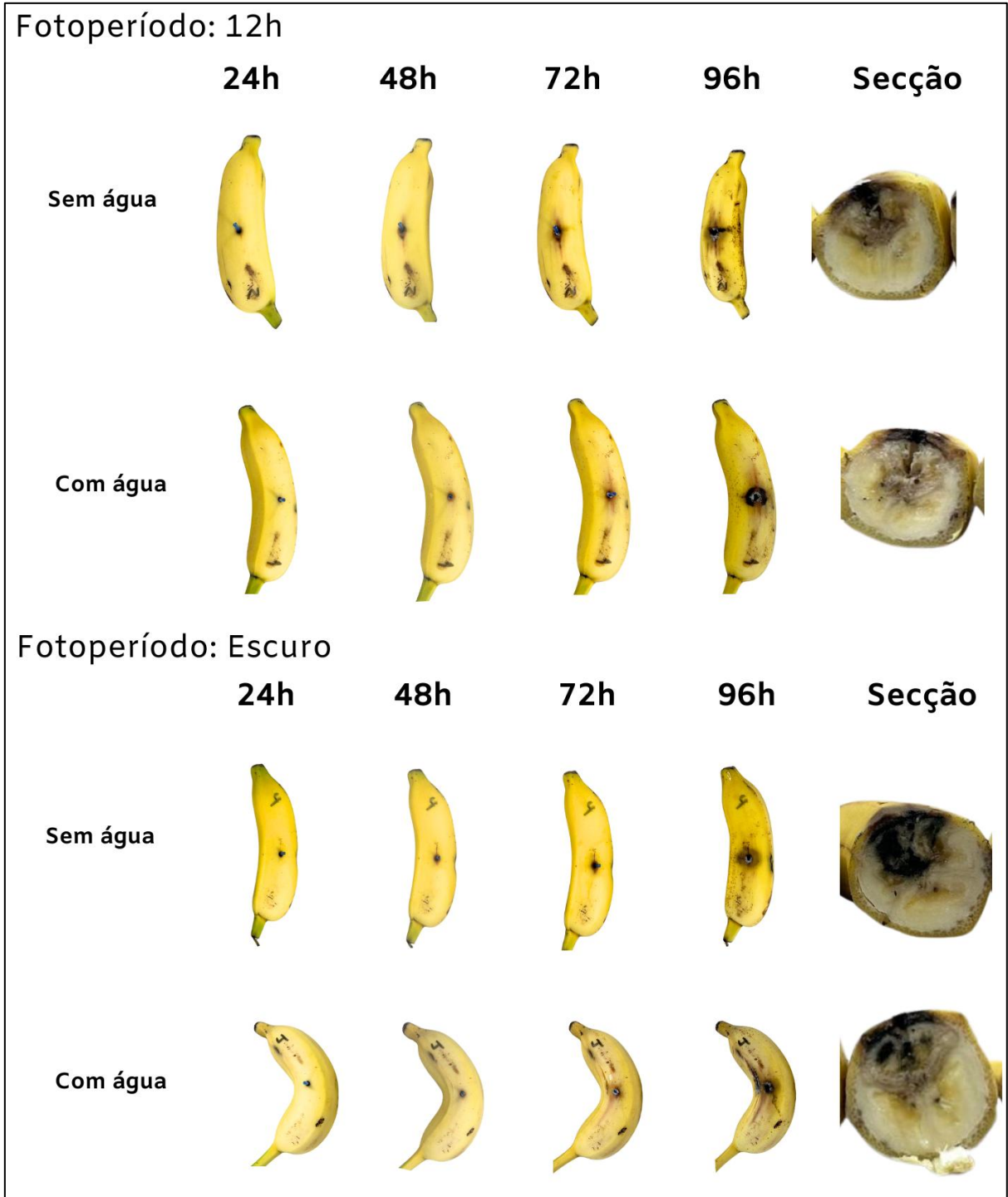


Figura 13: Desenvolvimento da doença em frutos de banana armazenados a 25°C sob diferentes fotoperíodos e presença ou ausência de água na embalagem.

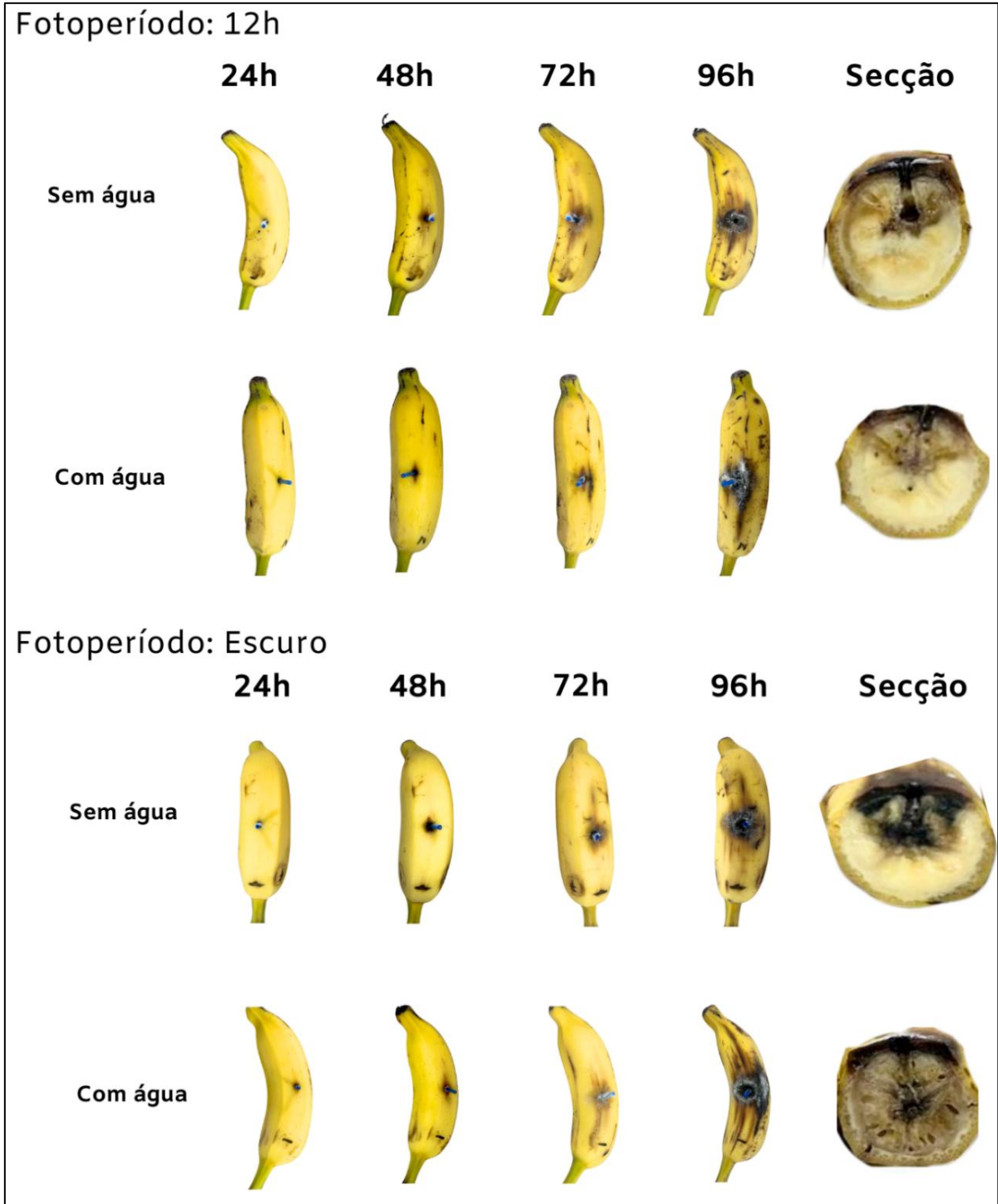


Figura 14: Desenvolvimento da doença em frutos de banana armazenados a 30°C sob diferentes fotoperíodos e presença ou ausência de água na embalagem.

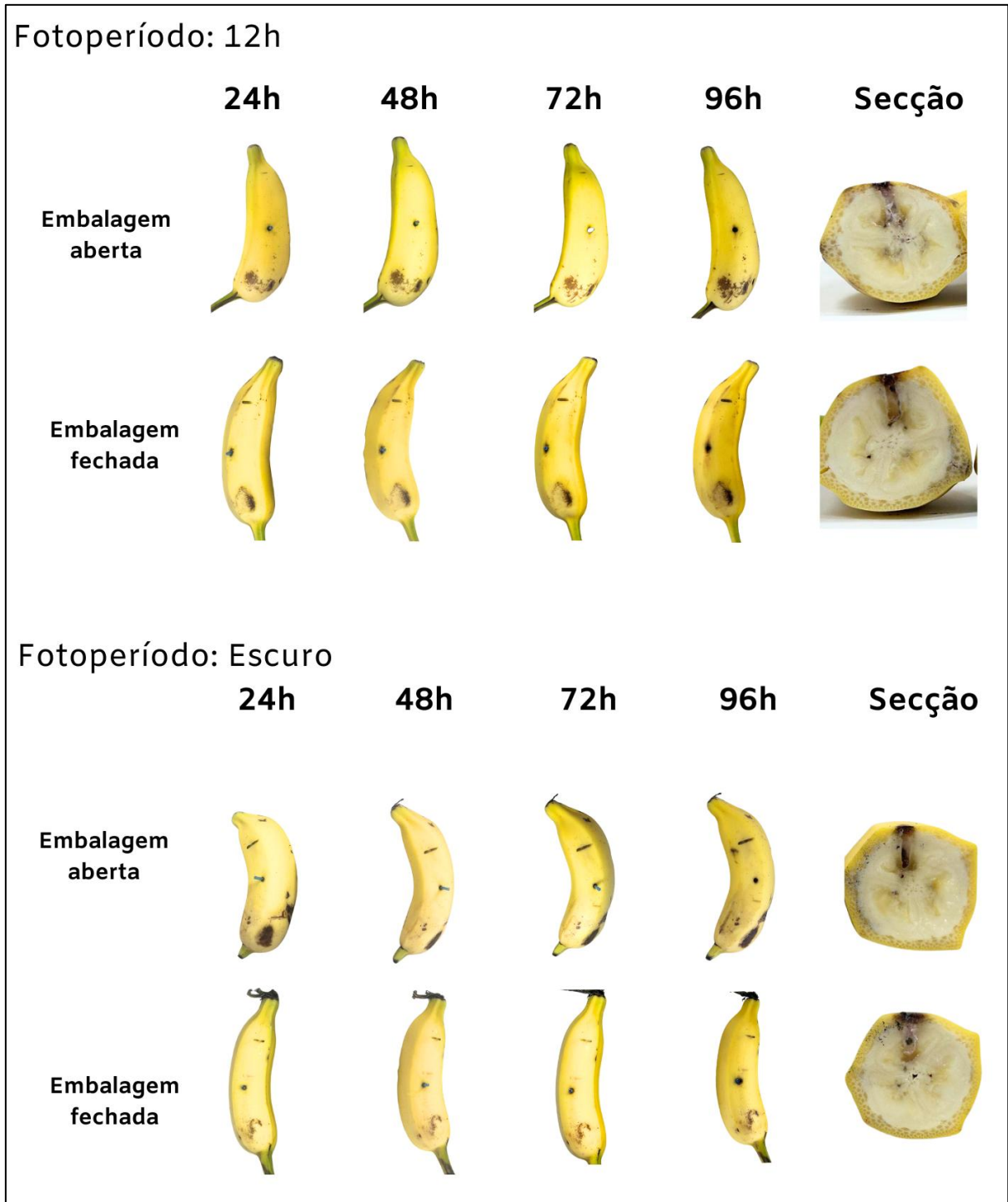


Figura 16: Desenvolvimento da doença em frutos de banana armazenados a 15°C sob diferentes fotoperíodos e forma de acondicionamento na embalagem.

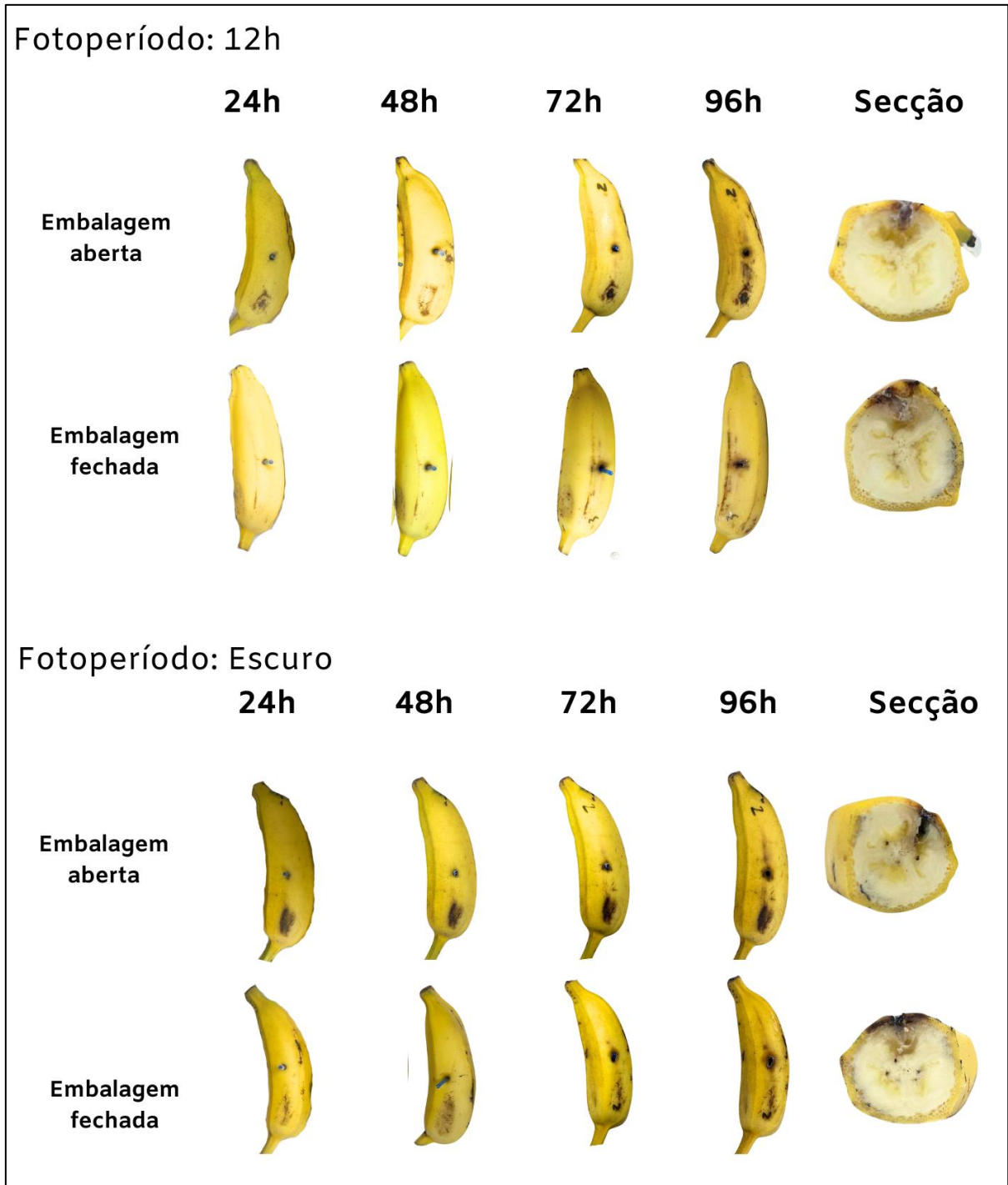


Figura 17: Desenvolvimento da doença em frutos de banana armazenados a 20°C sob diferentes fotoperíodos e forma de acondicionamento na embalagem.

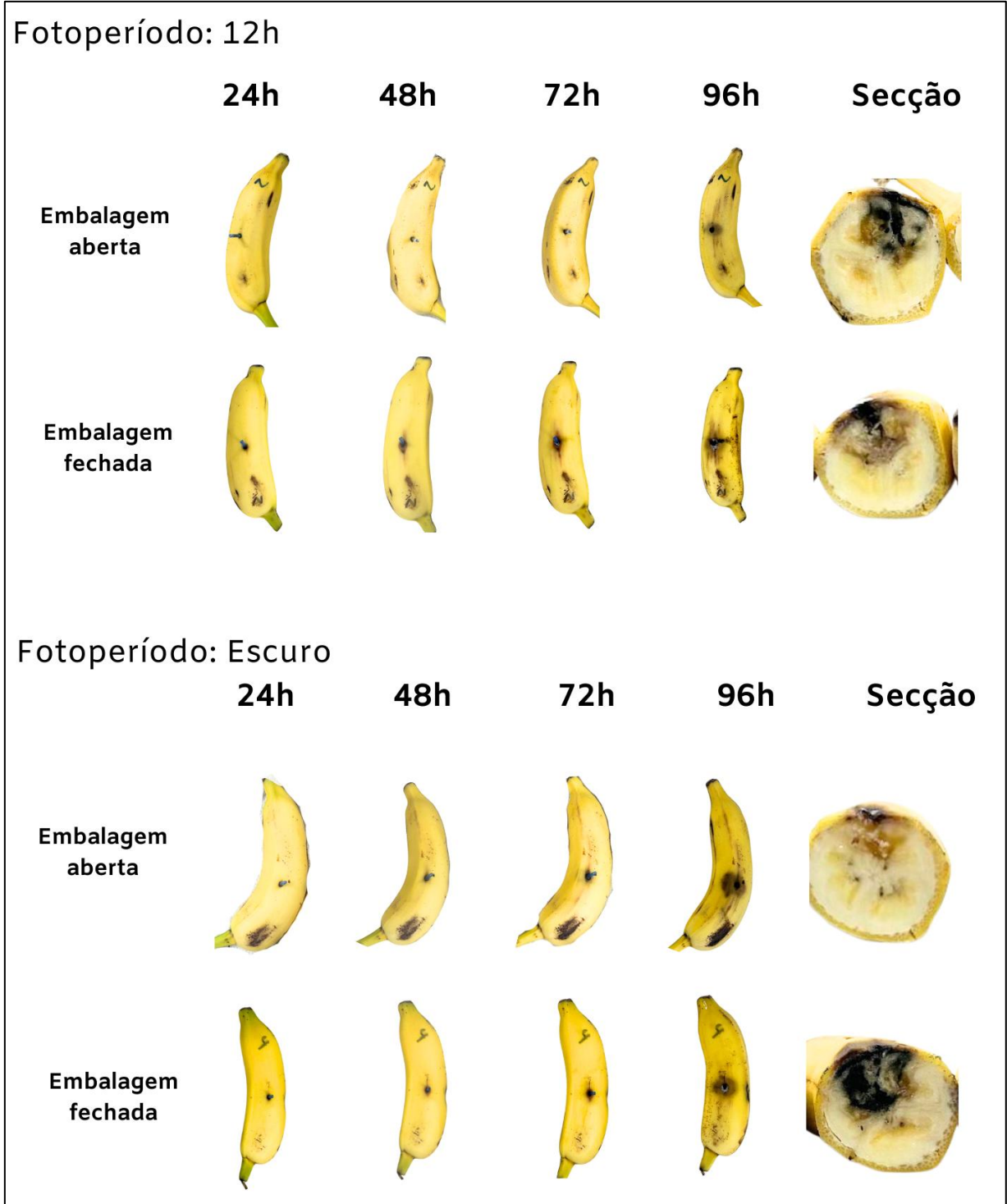


Figura 18: Desenvolvimento da doença em frutos de banana armazenados a 25°C sob diferentes fotoperíodos e forma de acondicionamento na embalagem.

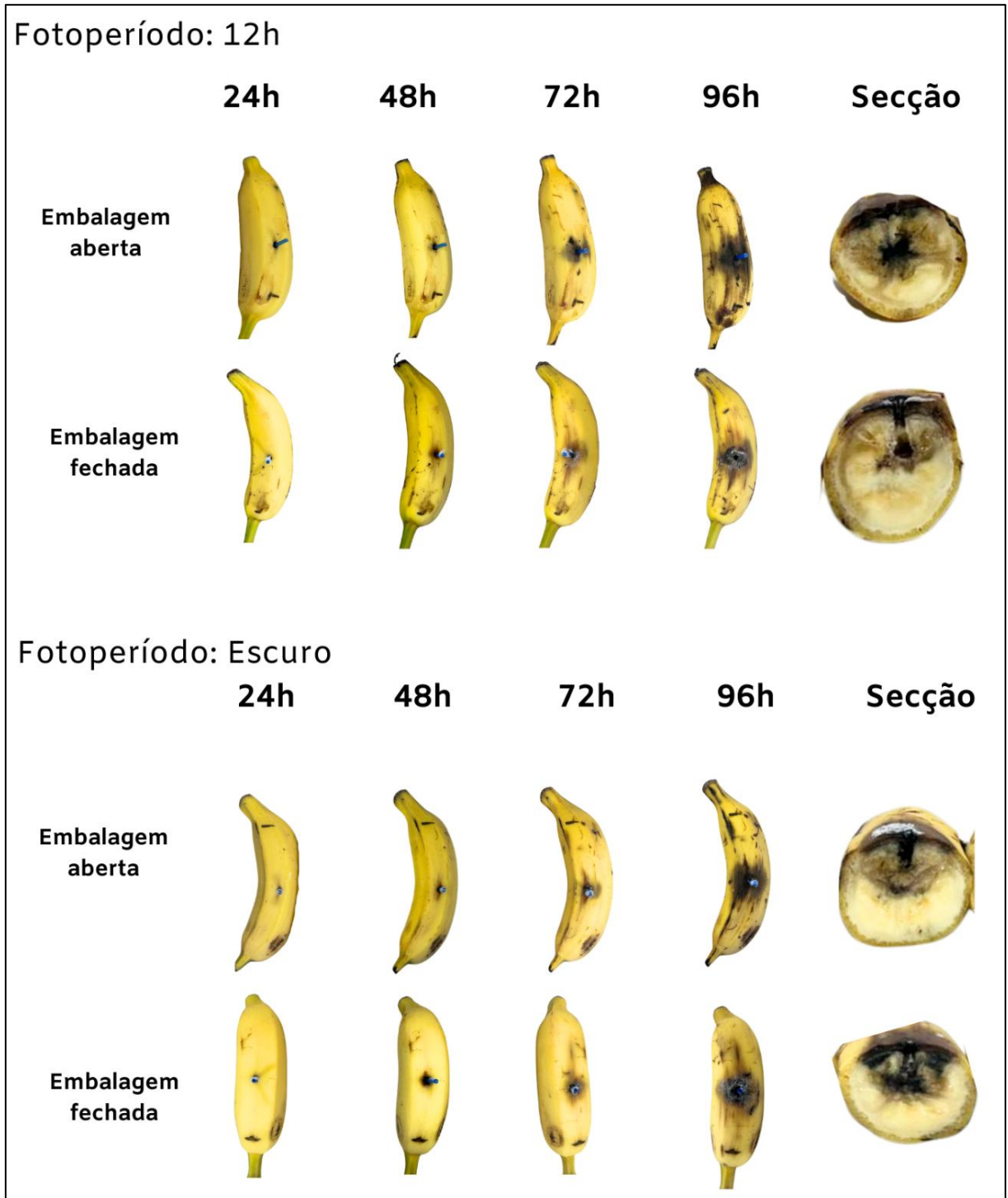


Figura 19: Desenvolvimento da doença em frutos de banana armazenados a 30°C sob diferentes fotoperíodos e forma de acondicionamento na embalagem.