



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS II-LAGOA SECA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAIS-CCAA
DEPARTAMENTO AGROECOLOGIA E AGRONOMIA
CURSO DE BACHARELADO EM AGRONOMIA**

JOÃO VITOR DA SILVA PEREIRA

**COOCORRÊNCIA DE *Fusarium solani* E *Fusarium oxysporum* NA PODRIDÃO SECA
EM BATATEIRA**

**LAGOA SECA - PB
2024**

JOÃO VITOR DA SILVA PEREIRA

**COOCORRÊNCIA DE *Fusarium solani* E *F. oxysporum* NA PODRIDÃO SECA EM
BATATEIRA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Agronomia da
Universidade Estadual da Paraíba, como
requisito parcial à obtenção do título de
Engenheiro Agrônomo.

Área de concentração: Fitopatologia

Orientadora: Profa. Dra. Élide Barbosa Corrêa.

Coorientadora: Dra. Amanda de Melo Gonçalves Gaião.

**LAGOA SECA - PB
2024**

P436c Pereira, João Vitor da Silva.
Coocorrência de *Fusarium Solani* e *Fusarium Oxysporum* na podridão seca em batateira [manuscrito] / João Vitor da Silva Pereira. - 2024.
24 f. : il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias e Ambientais, 2024.

"Orientação : Prof. Dra. Élide Barbosa Corrêa, Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais - CCAA".

"Coorientação: Dra. Amanda de Melo Gonçalves Gaião, UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA".

1. Pós-colheita. 2. Doenças de plantas. 3. *Solanum tuberosum*. 4. Batata inglesa. I. Título

21. ed. CDD 632.19

JOÃO VITOR DA SILVA PERAIRA

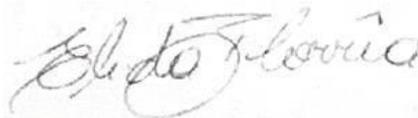
COOCORRÊNCIA DE *Fusarium solani* E *Fusarium oxysporum* NA PODRIDÃO SECA EM
BATATEIRA

Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo)
apresentado ao Departamento do Curso
Agronomia da Universidade Estadual da
Paraíba, comorequisito parcial à obtenção do
título de Bacharel em Agronomia.

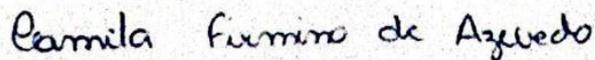
Área de concentração: Fitopatologia.

Aprovada em: 22/11/2024.

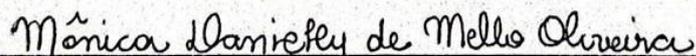
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dra. Élda Barbosa Corrêa (Orientadora)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dra. Camila Firmino de Azevedo
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Dr. Mônica Danielly de Mello Oliveira
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

“Somos assim. Sonhamos o voo, mas tememos as alturas. Para voar é preciso amar o vazio. Porque o voo só acontece se houver o vazio. O vazio é o espaço da liberdade, a ausência de certezas ...”

Rubem Alves

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	07
2 METODOLOGIA	09
2.1 Isolamento de <i>Fusarium</i> spp	09
2.2 Cultura pura	09
2.2.1 Caracterização morfológica	09
2.2.2 Cultivo Monospórico e preservação dos isolados	09
2.2.3 Extração de DNA e PCR	10
2.3.4 Teste de patogenicidade.....	12
2.4 Análises estatísticas	13
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	15
3.1 Avaliação de marcadores morfológicos	15
3.3 Caracterização molecular	17
3.4 Teste de patogenicidade	18
4 CONCLUSÃO	20
5 REFERÊNCIAS	20

**COOCORRÊNCIA DE *Fusarium solani* E *Fusarium oxysporum* NA
SEVERIDADE DA PODRIDÃO SECA EM BATATEIRA**

**CO-OCCURRENCE OF *Fusarium solani* AND *Fusarium oxysporum* IN
THE SEVERITY OF DRY ROT IN POTATO PLANTS**

João Vitor da Silva Pereira*

RESUMO

A batata (*Solanum tuberosum* L.) ocupa o terceiro lugar em consumo mundial, devido ao seu elevado valor nutricional. No entanto, um dos desafios é o armazenamento a longo prazo, devido à vulnerabilidade dos tubérculos a doenças ocasionada por patógenos, com destaque a podridão seca causada por *Fusarium* spp., que pode causar perdas de até 70% e também a contaminação por micotoxinas prejudiciais à saúde humana. A identificação das espécies associadas é crucial para entender sua interação com o hospedeiro e aprimorar o diagnóstico. O objetivo deste trabalho foi identificar e caracterizar, a nível morfológico e molecular as espécies de *Fusarium* associadas à podridão seca em tubérculos de batata provenientes de sistemas agroecológicos da Paraíba. A caracterização dos isolados foi realizada por meio de análises macro e microscópicas em placas de Petri contendo o meio Batata Dextrose Ágar (BDA). A extração de DNA seguiu o protocolo do método CTAB, e a amplificação do gene *Tef-1α* foi essencial para identificar *Fusarium oxysporum*, devido à sua alta conservação dentro da espécie. O teste de patogenicidade permitiu avaliar visual e quantitativamente a severidade da podridão seca causada por *F. solani* e *F. oxysporum*. Os resultados moleculares e fenotípicos confirmaram a identidade do isolado *F. oxysporum* (CFF 01) e a presença de *F. solani* (CFF 02), indicando que ambos os isolados não apresentaram diferenças significativas na severidade da doença nos tubérculos de batata.

Palavras-chave: Pós-colheita, doença, *Solanum tuberosum*.

**COOCORRÊNCIA DE *Fusarium solani* E *Fusarium oxysporum* NA
SEVERIDADE DA PODRIDÃO SECA EM BATATEIRA**

**CO-OCCURRENCE OF *Fusarium solani* AND *Fusarium oxysporum* IN
THE SEVERITY OF DRY ROT IN POTATO PLANTS**

João Vitor da Silva Pereira*

ABSTRACT

The potato (*Solanum tuberosum* L.) ranks third in global consumption due to its high nutritional value. However, one of the challenges is long-term storage due to the vulnerability of tubers to diseases caused by pathogens, particularly dry rot caused by *Fusarium* spp., which can lead to losses of up to 70% and contamination by mycotoxins harmful to human health. Identifying the associated species is crucial to understanding their interaction with the host and improving diagnostics. This study aimed to identify and characterize, at morphological and molecular levels, the *Fusarium* species associated with dry rot in potato tubers from agroecological systems in Paraíba. The isolates were characterized through macro and microscopic analyses in Petri dishes containing Potato Dextrose Agar (PDA) medium. DNA extraction followed the CTAB method protocol, and the amplification of the *Tef-1α* gene was essential for identifying

*Discente em Agronomia na Universidade Estadual da Paraíba-
Campus II. Vitorpereira.vp644@gmail.com

Fusarium oxysporum due to its high conservation within the species. The pathogenicity test enabled a visual and quantitative evaluation of the severity of dry rot caused by *F. solani* and

F. oxysporum. Molecular and phenotypic results confirmed the identity of the isolate *F. oxysporum* (CFF 01) and the presence of *F. solani* (CFF 02), indicating that both isolates showed no significant differences in disease severity in potato tubers.

Keywords: Post-harvest, disease, *Solanum tuberosum*.

1 INTRODUÇÃO

A batata (*Solanum tuberosum* L.), nativa da Cordilheira dos Andes na América do Sul, foi introduzida na Europa por volta de 1570 e, em meados de 1620, alcançou à América do Norte, onde se popularizou (Embrapa, 2017). Trata-se de uma planta anual, herbácea e dicotiledônea da família Solanaceae e do gênero *Solanum*, que abrange mais de 2.000 espécies. Dentre essas, cerca de 150 produzem tubérculos, mas aproximadamente 20 são cultivadas comercialmente (Tofoli; Domingues, 2022).

Atualmente, essa cultura ocupa o terceiro lugar em consumo mundial e destaca-se como a principal commodity agrícola fora do grupo dos grãos, amplamente comercializada pelo seu valor energético e perfil nutricional. O tubérculo é composto por cerca de 80% de água, 16% de carboidratos e aproximadamente 2% de fibras, sendo as proteínas o segundo nutriente mais abundante, essas características fazem da batata um alimento essencial na dieta humana (Suinaga; Pereira, 2015).

Em 2023, a produção de batata no Brasil atingiu 4.188.704 toneladas, com Minas Gerais, São Paulo e Paraná sendo os principais estados produtores (IBGE, 2023). Na Paraíba, o levantamento mais recente do IBGE (2020) apontou uma colheita de 236 toneladas, mostrando um crescimento expressivo, 30 vezes maior que a produção estimada no ano anterior. Esse aumento significativo demonstra o avanço relevante dessa cultura no estado.

A produção de batata em sistemas agroecológicos e orgânicos tem ganhado cada vez mais adeptos, impulsionada pelos benefícios socioambientais e pela crescente demanda por alimentos mais saudáveis e sustentáveis (Inguaggiato *et al.*, 2022). Um estudo de Azevedo *et al.* (2018), revelou que, entre 2013 e 2018, mais de 120 famílias da região do Agreste da Borborema adotaram o cultivo agroecológico de batata, cultivando um total de 39,3 hectares. Nesse período, a produção atingiu cerca de 700 toneladas, com uma produtividade média de 2,8 toneladas por hectare.

Apesar da importância da batata, um fator limitante é o armazenamento a longo prazo, necessário para garantir o suprimento contínuo desse alimento básico tanto para os consumidores quanto para a indústria. Os tubérculos de batata são altamente suscetíveis a diversas doenças, que podem ser causadas por fungos, cromistas, bactérias, vírus, nematoides e distúrbios fisiológicos abióticos (Pereira; Suinaga, 2015). Muitas dessas doenças são tão devastadoras que, quando não controladas, podem resultar em perda total da produção ou comprometer a qualidade do produto, cuja aparência é altamente valorizada pelos consumidores.

Embora algumas infecções possam se desenvolver nos tubérculos antes da colheita, a maioria das infecções ocorre durante e após a colheita (El-nagar, 2024). Dentre as doenças que incidem sobre essa cultura, a podridão seca tem elevada importância e é causada por várias espécies de *Fusarium* que incluem *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium sambucinum*, *Fusarium avenaceum* e *Fusarium culmorum* (Kotan, 2009). As perdas de rendimento da batata por podridão seca no armazenamento variam de 20 a 35% e em casos graves, podem chegar a 70% (Tofoli; Domingues, 2022).

Espécies de *Fusarium* são comuns na maioria dos solos onde as batatas são

cultivadase sobrevivem como esporos resistentes podendo sobreviver por mais de 10 anos no solo e se espalhar pela água ou dentro de tecidos de plantas em decomposição (Yang, 2024). Pequenas lesões marrons aparecem nos locais dos ferimentos três a quatro semanas após a colheita e continuam a aumentar durante o armazenamento. O apodrecimento extenso faz com que o tecido encolha e colapse, deixando uma área escura e afundada na parte externa do tubérculo, mostrando cavidades internas (Xue; Yang, 2023).

A podridão seca não só reduz o rendimento da colheita, mas também pode contaminar os tubérculos com micotoxinas que causam efeitos citotóxicos, genotóxicos, neurotóxicos e hepatotóxicos em animais e humanos e, portanto, ameaçam a saúde quando ingeridas diretamente através de plantas infectadas por *Fusarium* spp. ou indiretamente por meio do leite ou carne de animais que foram alimentados com ração infectada. Os principais tipos de micotoxinas produzidas por *Fusarium* spp. incluem beauvericina, moniliformina, fumonisinas, tricotecenos e zearalenona, sendo os dois últimos considerados os mais importantes devido à sua ocorrência comum (Stefańczyk *et al.*, 2016).

O papel biológico de *Fusarium* spp. em tubérculos de batata, seja como causadores de podridão seca, patógenos secundários ou saprófitas é difícil de determinar. Mesmo dentro das espécies associadas à podridão seca, podem ser encontrados isolados não patogênicos, e diferentes espécies causam lesões de tamanhos variados (Gachango *et al.*, 2012). Por isso, a identificação das espécies presentes nos tubérculos de batata, independentemente de seu papel específico, é essencial para compreender o nível de interação do patógeno com o hospedeiro. Isso não só ajuda a avaliar o risco de infecção causado por micotoxinas, mas também a entender os danos provocados durante o processo de pós-colheita (Tiwari, 2023; Azil, 2021).

A identificação de patógenos pode ser feita de forma morfológica, com base em características visíveis como a forma e estrutura das hifas e esporos. No entanto, esse método apresenta limitações devido à variabilidade entre espécies e a necessidade de condições específicas para a expressão de características diagnósticas. Já a identificação molecular, que utiliza sequências de DNA, oferece maior precisão, permitindo a diferenciação de espécies morfológicamente semelhantes. A combinação dessas duas abordagens resulta em uma metodologia mais robusta, garantindo diagnósticos mais precisos e eficientes no monitoramento e controle de fungos (Santos, 2023).

Atualmente, não existem cultivares de batata resistentes à fusariose. Por isso, o controle da doença é focado em práticas preventivas e culturais. Recomenda-se o uso de batata-semente saudável, o plantio em solos livres do patógeno ou com baixo potencial de inóculo, rotação de culturas e o plantio raso (5-7 cm) para facilitar a emergência das plantas, além de realizar a amontoa quando o caule estiver mais rígido (Amorim *et al.*, 2016). Além dessas medidas, o controle químico também é empregado no manejo da doença, com a aplicação de fungicidas (Chellemi *et al.*, 2016; Vatankhah *et al.*, 2019). Portanto, o objetivo deste trabalho foi identificar e caracterizar, a nível morfológico e molecular duas espécies de *Fusarium* associadas à podridão seca em

tubérculos de batata provenientes de sistemas agroecológicos da Paraíba.

2 METODOLOGIA

Este trabalho foi realizado nas instalações do departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Utilizaram-se dois laboratórios: o primeiro, o Laboratório de Micologia, para auxiliar na identificação dos isolados; e o segundo, o Laboratório de Patologia de Sementes, onde foram conduzidos os ensaios necessários para o estudo.

2.1 Isolamento de *Fusarium* spp.

Os isolados de *Fusarium* spp. foram obtidos por isolamento indireto a partir de amostras de tubérculos de batata com sintomas de podridão seca, cultivadas em agroecossistemas da região do brejo paraibano, conforme descrito por Pereira (2023).

2.2 Cultura pura

2.2.1 Caracterização morfológica

Os isolados de *Fusarium* spp., CFF 01 e CFF 02 provenientes da coleção micológica do laboratório de fitopatologia da UEPB foram inicialmente cultivados em meio de cultura BDA e incubados a 25 ± 2 °C por sete dias. Após esse período, discos de 5 mm foram retirados da borda das colônias em crescimento e transferidos para o centro de placas contendo meio Extrato de Malte (MALT). As características fenotípicas das culturas foram avaliadas, registrando-se o diâmetro das colônias, cor, margens e a aparência geral dos isolados em placas de Petri.

Posteriormente, a caracterização micromorfológica foi realizada de acordo com Leslie e Summerell (2006) através da observação de células fúngicas ao microscópio. Eventualmente, para estudar a morfologia dos conídios, os explantes de cultura foram transferidos e cultivados em placas de Petri com meio MALT. As lâminas foram preparadas a partir de culturas fúngicas após a esporulação e produção de microconídios e macroconídios. O comprimento, largura e número de septações por conídios foram registrados com auxílio de um microscópio Axiolab 5 da Zeiss.

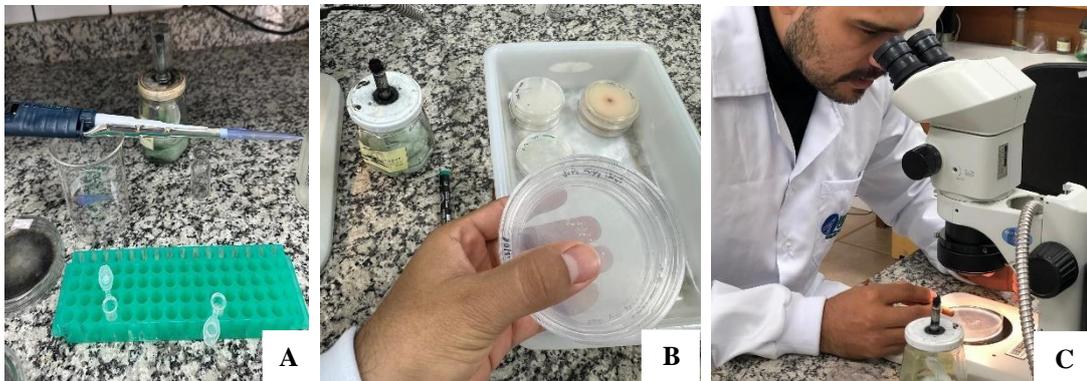
2.2.2 Cultivo Monospórico e preservação dos isolados

Para a purificação dos isolados CFF 01 e CFF 02, foi utilizada a técnica da cultura monospórica (Fernandez, 1993), em que fragmentos do micélio dos fungos foram colocados em 1 mL de água destilada e esterilizada, agitados e plaqueados em placas de Petri contendo meio de cultura ágar-água (AA, 20 g de ágar e 1000 mL água destilada). Após 12 h de incubação em temperatura ambiente foi realizada a observação dos conídios germinados em meio AA, através de microscópio ótico. Os

conídios que germinaram isoladamente foram repicados para placas de Petri contendo meio de cultura BDA (para observação da cor e medição da colônia), assim permitindo a melhor caracterização de macroconídios, microconídios como demonstrado na Figura 1.

Pequenos fragmentos de micélio foram preservados em microtubos contendo água destilada estéril, mantidos a 10°C e no escuro. Essas culturas monospóricas foram utilizadas posteriormente para a caracterização molecular e para testes de patogenicidade.

Figura 01. Etapas para o cultivo monospórico. **A:** Microtubos de 1,5 ml contendo 1 ml de água destilada esterilizada com fragmentos de micélios; **B:** Placa de Petri de 9 cm com meio de cultura AA, para a visualização dos conídios germinados e **C:** Observação dos conídios germinados após 12 horas com ajuda de um microscópio



Fonte: Do autor, 2024.

2.2.3 Extração de DNA e PCR

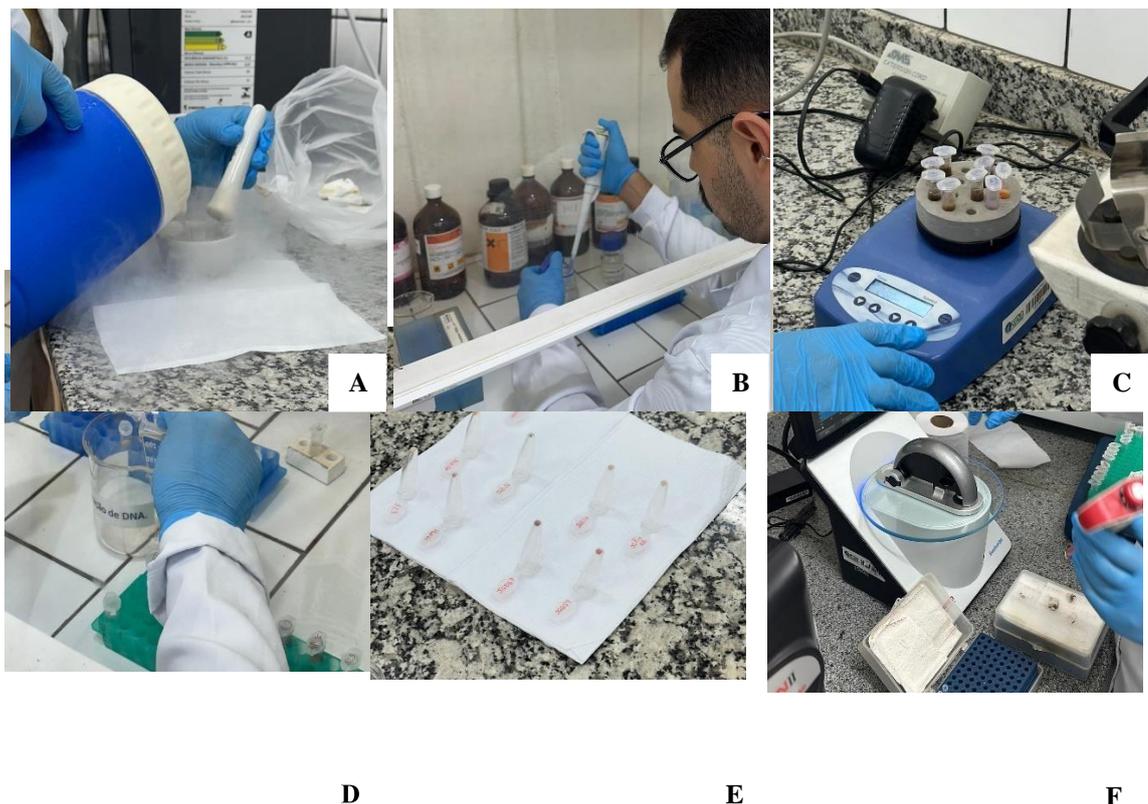
Os isolados foram cultivados em meio líquido à base de extrato de malte 2% por três dias, em temperatura ambiente (25 a 28°C) sob agitação de 100 rpm em agitador de mesa orbital. O micélio foi filtrado, macerado em nitrogênio líquido, e a extração de DNA foi realizada utilizando-se o método CTAB (O'Donnell, 1992) adaptado no laboratório de micologia da UFLA.

Após maceração do micélio este foi homogeneizado por 2 minutos em vórtex em tampão CTAB (2%) contendo β-mercaptoetanol (0,2%) e posteriormente incubados por 15 minutos a 65°C. Foram adicionados 500 µL de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1) e agitado em vórtex por 1 minuto. Essa mistura foi centrifugada a 13.000 rpm por 10 minutos, ao final foi recuperado 600 µL do sobrenadante e transferidos para um novo microtubo. O mesmo volume foi adicionado de isopropanol gelado (600 µL) e 300 µL de acetato de sódio 3M (pH 5,2) e agitado suavemente por inversão (25 a 30 vezes). As amostras foram incubadas a -20°C por 15 minutos e posteriormente centrifugadas a 13.000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi descartado, adicionado 100 µL de etanol 70% ao pellet, agitado por inversão e centrifugado a 13.000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi descartado e o pellet foi seco em temperatura ambiente. O precipitado foi então ressuspensionado em 100 µL de

TE 1X, seguido da adição de 10 μL de acetato de sódio 3M (pH 5,2) e 250 μL de etanol absoluto gelado, com agitação por inversão e centrifugado a 10.000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi descartado e adicionado 500 μL de etanol 70 % gelado e centrifugado a 10.000 rpm por 5 minutos. Novamente o sobrenadante foi descartado e o pellet seco em temperatura ambiente. Foram adicionados 50 μL de TE 1X, e a amostra foi mantida a 4°C em *overnight* (Figura 02).

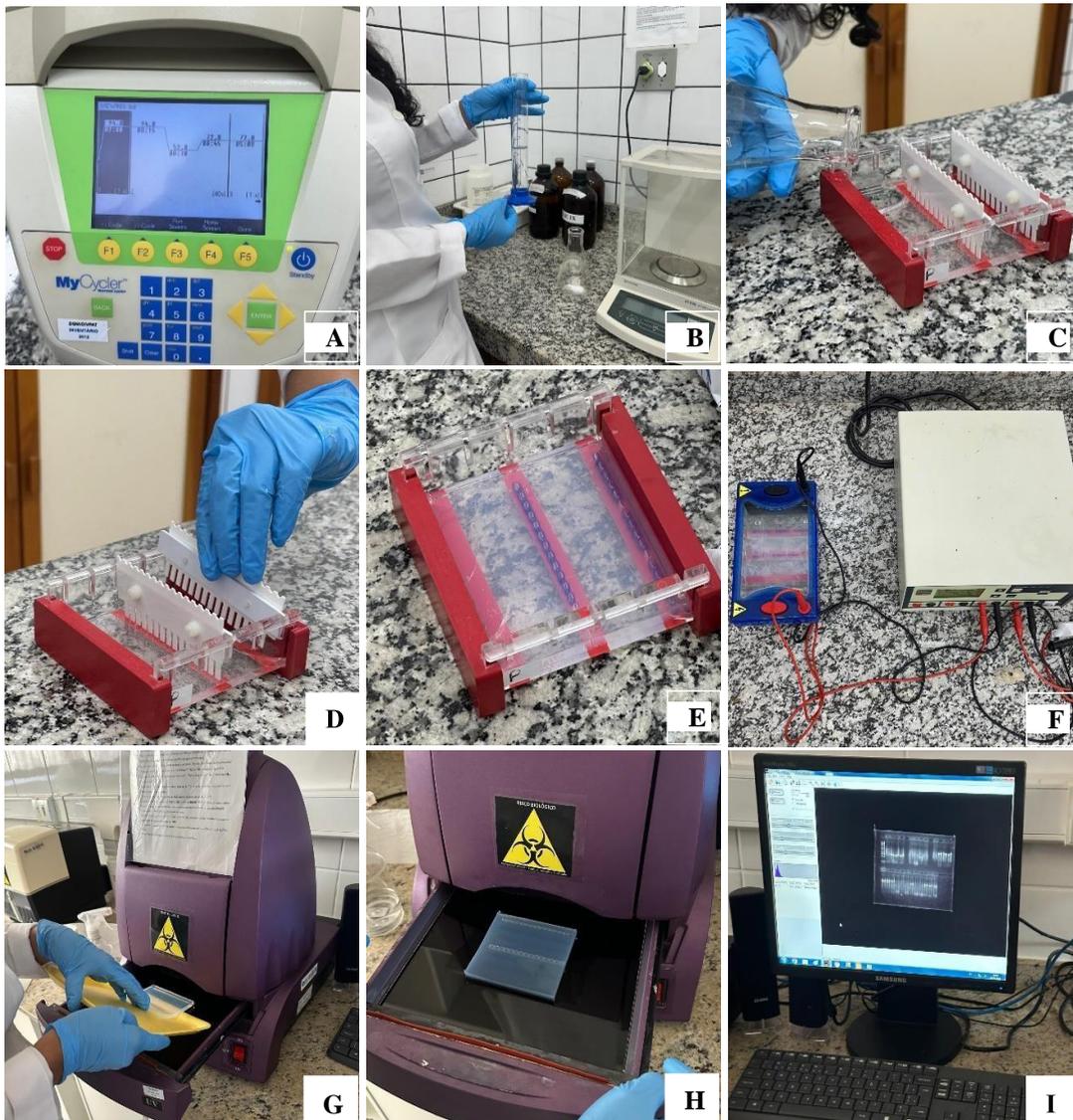
A qualidade da amostra foi analisada através da leitura de absorbância utilizando o NanoDrop Microvolume Spectrophotometer capabilities e a integridade do DNA em gel agarose 1% submetido à eletroforese.

Figura 02. Processo de extração e quantificação do DNA. **A:** Adição do nitrogênio líquido para a maceração da massa de micélios; **B:** Inclusão dos reagentes necessários para a extração do DNA; **C:** Micélios macerados sobre agitação no Vortex; **D:** Descarte de sobrenadantes; **E:** Pellets durante a secagem e **F:** Quantificação do DNA no NanoDrop Microvolume Spectrophotometer capabilities



Fonte: Do autor, 2024.

Figura 03. Preparação do gel de agarose com o desenvolvimento da PCR. **A:** Termociclador MyCycler™(BIO-RAD), utilizado para os ciclos de PCR; **B:** Preparação para o gel de agarose; **C:** Solução contendo agarose e TAE 1X sendo colocado na cuba; **D:** Processo de retirada dos pentes da cuba que está alocado o gel; **E:** Gel de agarose preparado, pronto para receber as amostras de DNA com o mix de corante e GelRed; **F:** Cuba de eletroforese, coberto com tampão de corrida; **G e H:** Gel com as amostras colocado em um fotodocumentador da marca DNR Bio Imaging Systems e modelo MiniBIS; e **I:** Resultado da corrida expresso sob luz UV.



Fonte: Do autor, 2024.

2.3.4 Teste de patogenicidade

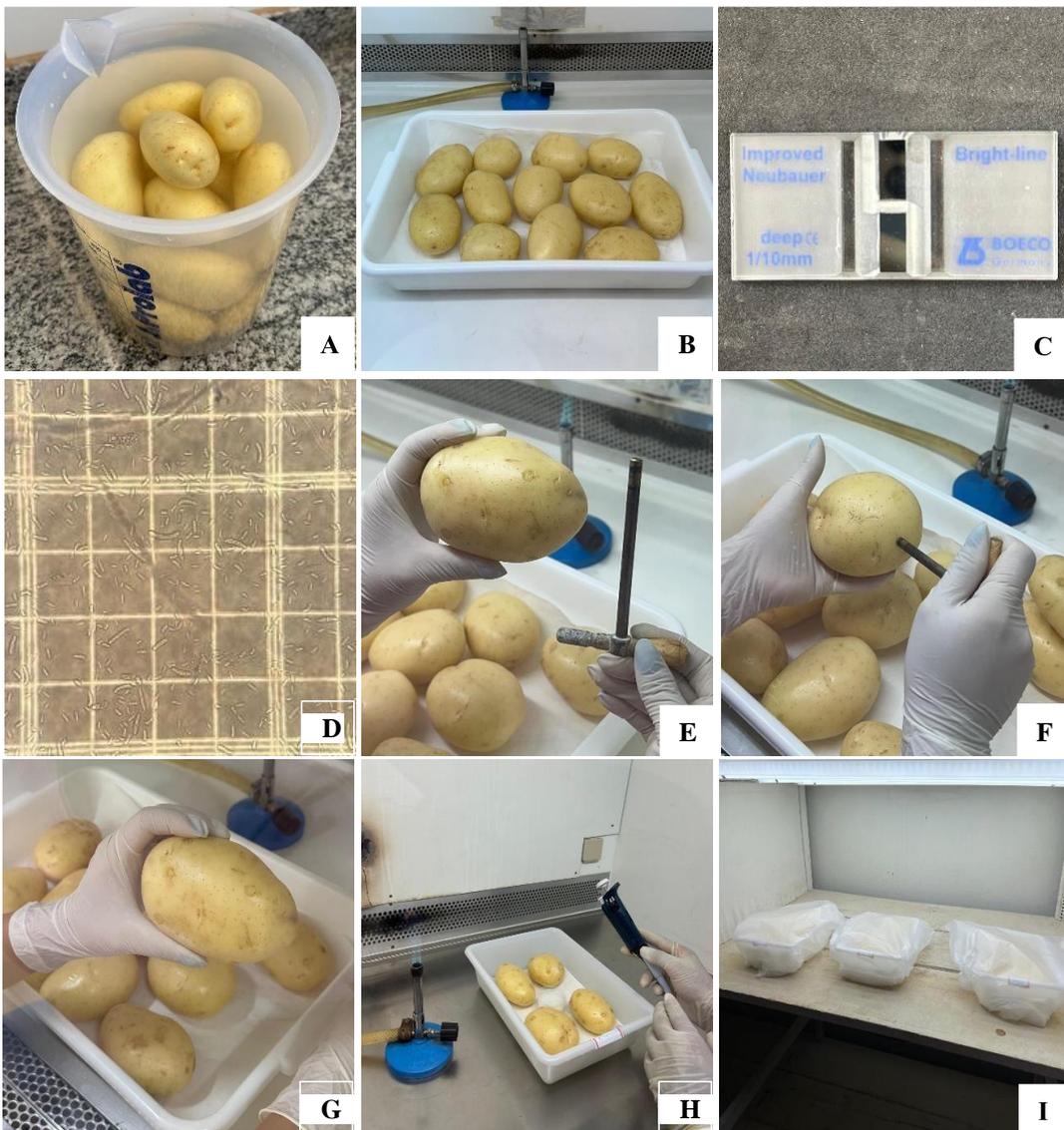
Foram utilizados dois isolados no teste: o primeiro consistiu em uma cultura pura de *F. oxysporum* e o segundo em uma cultura mista de *F. oxysporum* e *F. solani*. O método de inoculação adotado foi o proposto por Valluru *et al.* (2006), com adaptações. Para a realização do ensaio, 16 tubérculos sadios foram desinfetados superficialmente em solução de hipoclorito de sódio a 2% por 12 minutos, seguidos de três lavagens com água destilada autoclavada. Após a desinfestação, os tubérculos foram secos em condições assépticas.

Os ferimentos mecânicos foram realizados com um furador de rolhas, com 8 mm de profundidade e 4 mm de diâmetro. Após a perfuração, 200 μL da suspensão de esporos, ajustada para uma concentração de 5×10^6 esporos mL^{-1} , foi aplicado na área

ferida com auxílio de uma pipeta.

As batatas inoculadas foram dispostas em bandejas forradas com papel germitest autoclavado, juntamente com um copo descartável de 50 mL contendo pedaços de algodão umedecido com água destilada, para controle da umidade interna. As bandejas foram seladas com sacos plásticos e colocadas em uma câmara de crescimento a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, onde permaneceram por seis dias (Figura 04).

Figura 04- Etapa para a realização do teste de patogenicidade. **A:** Tubérculos de batatas no processo de desinfestação; **B:** Secagem dos tubérculos em condições assépticas; **C:** Câmara de Neubauer; **D:** Contagem de esporos na câmara de Neubauer; **E, F e G:** Perfuração dos tubérculos com auxílio do furador de rolha; **H:** Pipetando a suspensão de esporos nos ferimentos e **I:** Ensaio



Fonte: Do autor, 2024. Foi utilizado delimitação inteiramente casualizada (DIC) com quatro repetições como evidenciado na tabela 01.

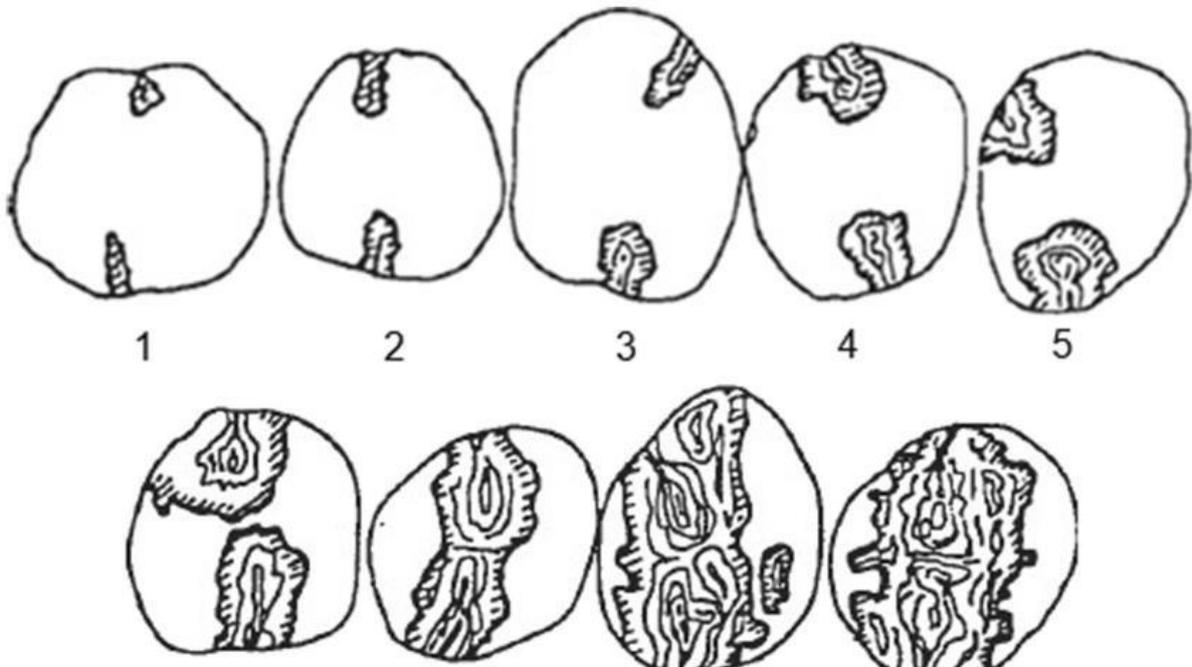
Tabela 01- Esquema do ensaio do teste de patogenicidade.

Desenho do ensaio

I solados	Repetições
<i>F. oxysporum</i>	4
Cultura mista	4
Testemunha perfurada	4
Testemunha sem perfuração	4

Após o período de incubação de seis dias, os tubérculos foram cortados no meio do local de inoculação, e a severidade da podridão foi avaliada usando uma escala de severidade adaptada por Langerfeld, (1987) e Valluru *et al.*, (2006), (Figura 05). Onde 1 = sem infecção, 2 = leve escurecimento do tecido, 3 = começo da podridão, 4 = sintomas claramente visíveis de podridão, mas sem cavidades, 5 = sintomas claramente visíveis com cavidades visíveis; 6 = até 30% da superfície de corte apodrecida, 7 = até 50% da superfície de corte apodrecida, 8 = 50–70% da superfície de corte apodrecida e 9 = > 70% da superfície de corte apodrecido. O diâmetro da profundidade interna da lesão foi medido usando um paquímetro, esta área busca quantificar a taxa de severidade que o patógeno pode causar no hospedeiro (Pereira, 2023).

Figura 05. Escala de severidade. Escala de severidade da doença (1–9) usada para avaliações de podridão seca de *Fusarium* após inoculação. Adaptado de Langerfeld (1987) e Valluru *et al.* (2006).



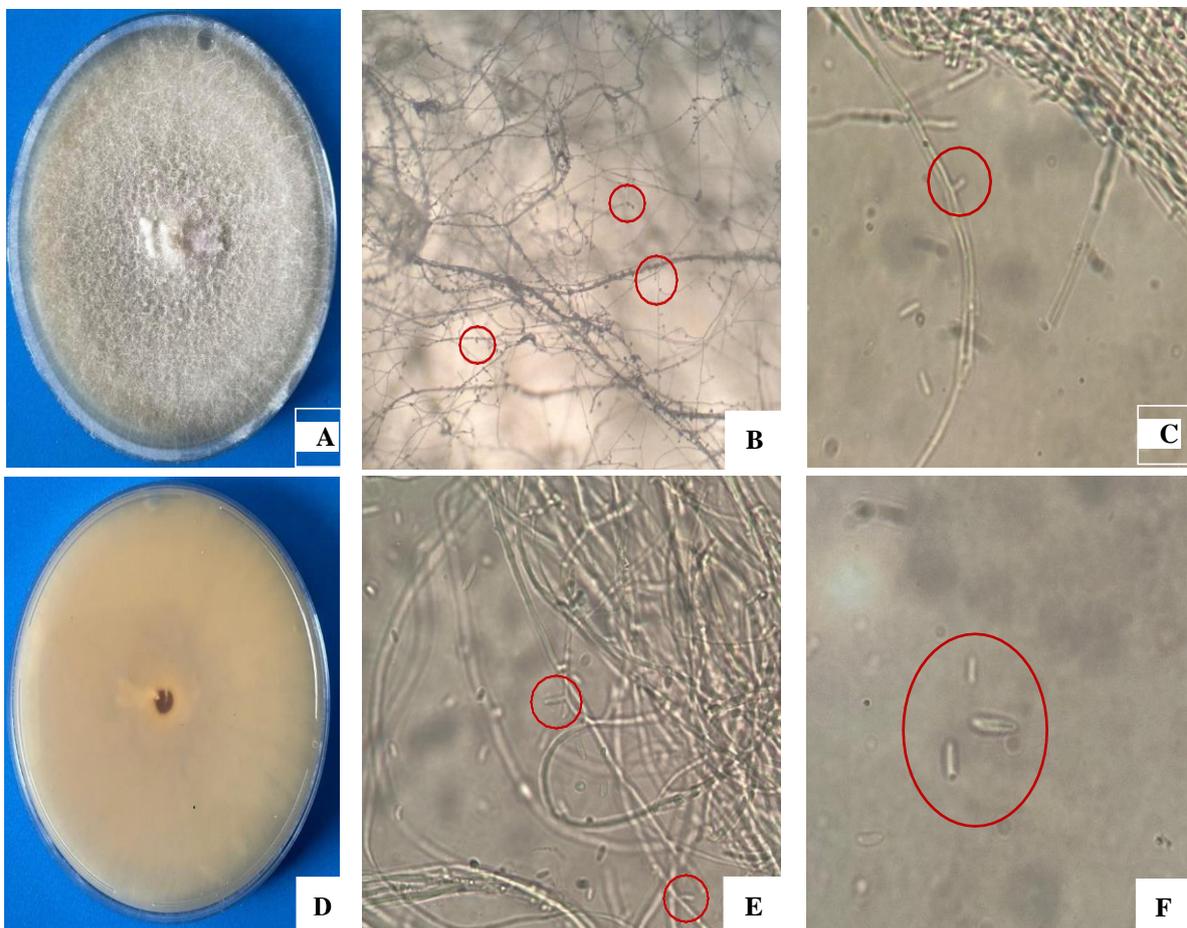
Os resultados foram submetidos ao teste de normalidade dos resíduos (Shapiro-Wilk) com nível de significância de 5%. Como os pressupostos de homogeneidade de variâncias (Bartlett) não foram atendidos, utilizou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Ambas as análises foram realizadas no software estatístico RStudio.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Avaliação de marcadores morfológicos

A identificação morfológica foi realizada por meio de técnicas macro e microscópicas. Na qual, o isolado identificado como *F. oxysporum* apresentou uma colônia de coloração violeta, com textura cotonosa. Sob o microscópio, foram observados microconídios septados de forma oval, além de estruturas como falsas cabeças e fiáldes curtas, características típicas desse fungo (Figura 06). Em estudos realizados por Yang *et al.* (2024), os resultados foram similares, evidenciando os marcadores morfológicos característico desta espécie.

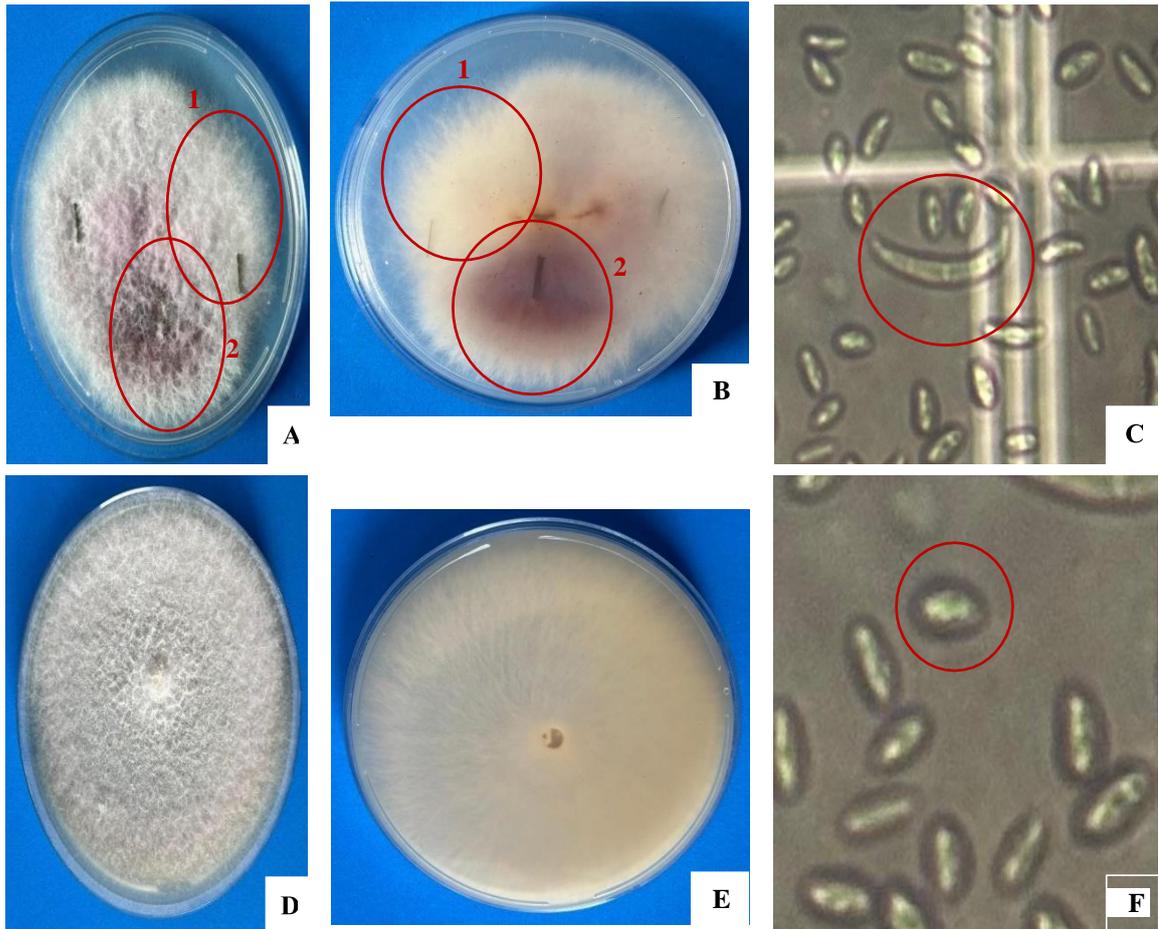
Figura 06. Características morfológicas de *Fusarium. oxysporum*. **A e D:** Fotos realizada do crescimento micelial do *F.oxysporum* em placa de Petri da parte superior e inferior, respectivamente; **B:** Imagem registrada do crescimento micelial contendo fiáldes curtas; **C e E:** Fiáldes curtas de *F. oxysporum*. representando marcador morfológico da espécie e **F:** Microconídios. As imagens **B, C, E e F** foram observadas em



microscópio de luz com aumento total de 400x.

Fonte: Do autor ,2024.

Figura 07. Características morfológicas da cultura mista composta por *F. oxysporum* e *F. solani*. . **A e B:** Imagem retirada da parte superior e inferior demonstrando o crescimento micelial das duas culturas que se encontram associadas, onde no círculo 1 mostra a cultura de *F. solani*, apresentando coloração bege e no círculo 2 culturas de *F. oxysporum* com cor violeta; **C:** Macroconídio hialino monofiáldico longo e delgado de *F. solani*; **D e E:** Imagem retirada da partesuperior e inferior representando o crescimento micelial das duas culturas que se encontram associadas e **F:** Microconídio semelhantes de *F. solani* e *F. oxysporum*.



Na cultura mista, composta por *F. oxysporum* e *F. solani*, a colônia apresentou uma coloração mista de bege e violeta, mantendo a textura cotonosa. Na análise microscópica, observaram-se fiálides curtas, características de *F. oxysporum*, e fiálides longas, associadas a *F. solani*. Além disso, foram visualizados macroconídios de *F. solani*, com leve curvatura (Figura 07).

Esses resultados estão de acordo com descrições já presentes na literatura, reforçando o uso da identificação morfológica dessas espécies (Leslie; Summerell, 2006). A análise morfológica, embora limitada em alguns aspectos, ainda pode fornecer informações valiosas para diferenciar espécies dentro do gênero *Fusarium*.

Apesar de não ser considerada um método definitivo, oferece uma base inicial importante para o reconhecimento das estruturas características e pode complementar a identificação das espécies.

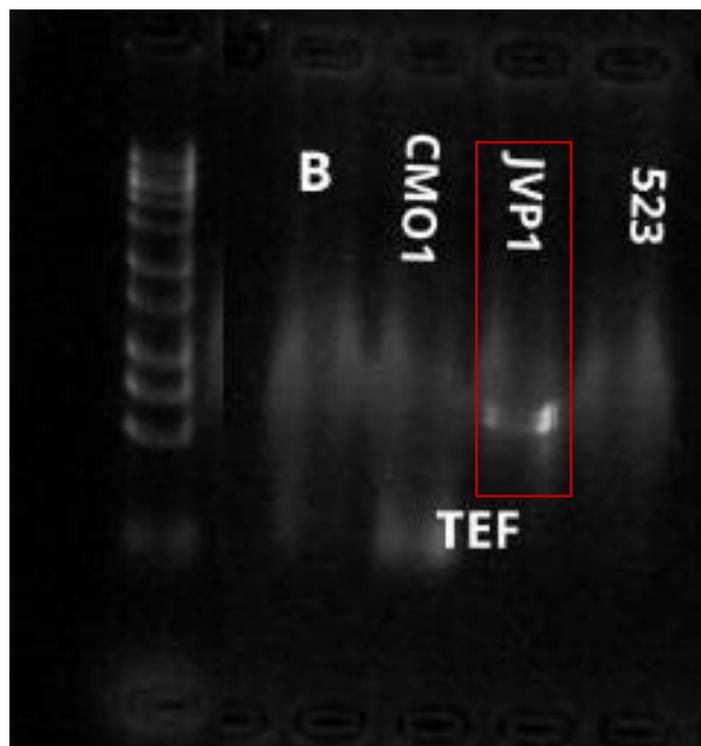
3.3 Caracterização molecular

A escolha pela região Tef-1 α em vez da região ITS (Internal Transcribed Spacer) foi baseada em considerações relacionadas à maior taxa de variação genética entre as espécies do gênero *Fusarium*. Embora o ITS seja amplamente utilizado em estudos de identificação de fungos, a região possui uma variação limitada dentro do gênero *Fusarium*, o que pode dificultar a discriminação precisa entre espécies muito semelhantes. Por outro lado, a região Tef-1 α tem demonstrado uma maior capacidade de discriminação genética dentro desse gênero, sendo capaz de fornecer informações mais robustas para a identificação e diferenciação de espécies. Esse maior potencial de variação genética na região Tef-1 α a torna uma escolha mais eficaz para estudos de taxonomia e diagnóstico de espécies de *Fusarium* (Bibi, 2024).

Na Figura 08, observa-se a amplificação da região Tef-1 α do *F. oxysporum*. Esse resultado corrobora a hipótese de que o isolado CFF 01 pertence a essa espécie, uma vez que a sequência amplificada apresentou similaridade com estudos previamente relatados, como os de Akosah *et al.* (2021) e Gherbawy *et al.* (2019).

Figura 08. Resultado da corrida expresso sob luz UV em um fotodocumentador. Gel de agarose à 1%, submetido a eletroforese, apresentando padrão de bandas resultado da PCR do isolado CFF 01 (JVP1) correspondente a região Tef-1 α do *F. oxysporum*.

Fonte: Do autor, 2024.



O produto da PCR foi enviado para sequenciamento na empresa Psomagen, localizada nos Estados Unidos. Como etapas subsequentes, as análises filogenéticas serão montadas utilizando o software SeqAssem ver. 07/2008 (Hepperle, 2004). Os alinhamentos serão obtidos usando ClustalW implementado no software MEGAX (Kumar *et al.*, 2018). As sequências de referência de espécies do complexo de *Fusarium* spp. serão obtidas no GenBank e utilizadas nos alinhamentos.

3.4 Teste de patogenicidade

Os isolados foram submetidos ao teste de patogenicidade para avaliar a severidade dos danos causados nos tubérculos de batata. Após um período de seis dias em câmara de crescimento, foram realizadas as análises, e a atribuição das notas na escala de severidade foi efetuada conforme apresentado na Figura 09.

Figura 09. Atribuição de notas segundo a escala de severidade, para cada tratamento. Os tratamentos foram separados em linhas, onde a testemunha, *F. oxysporum* e cultura mista de *F. solani* e *F. oxysporum*, foram identificados pelas letras **A**, **B** e **C**, respectivamente. Em cada tratamento contém foto das quatro repetições, onde foi atribuída uma nota abaixo de cada tubérculo, segundo a escala de severidade adaptado de Langerfeld (1987) e Valluru *et al.* (2006). Dentro dos tratamentos foram verificados nota 1 = sem infecção, 3 = começo da podridão, 4 = sintomas claramente visíveis de podridão, mas sem cavidades e 5 = sintomas claramente visíveis com cavidades visíveis.



Fonte: Do autor

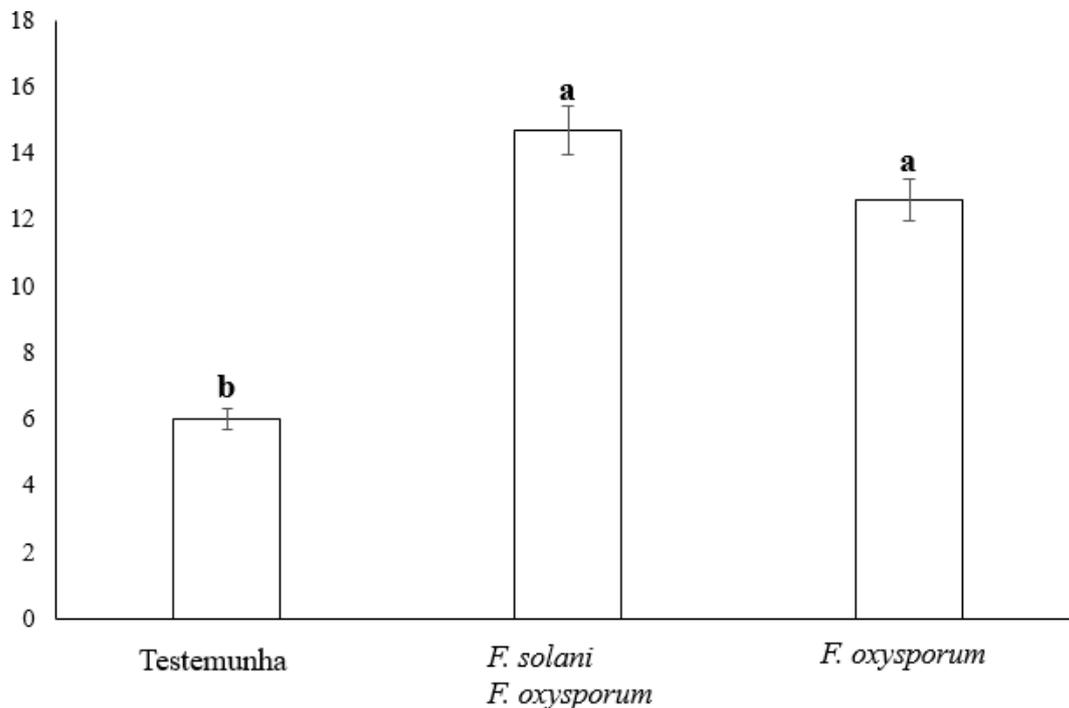
Observa-se que as notas atribuídas a cada repetição nos diferentes tratamentos (Figura 09) seguem a escala de severidade proposta por Langerfeld (1987) e Valluru *et*

al. (2006) (Figura 05). Um estudo realizado por Chen *et al.* (2020) evidenciou o uso dessa escala para destacar sua relevância em trabalhos similares. É importante ressaltar que, quanto maior o tempo de armazenamento dos tubérculos, maior tende a ser o índice de severidade observado. Além disso, a capacidade patogênica dos isolados também se apresenta como um fator significativo, conforme destacado por Khedher *et al.* (2021).

Para quantificar a severidade da doença, as lesões internas foram medidas com o auxílio de um paquímetro, considerando tanto as dimensões horizontal quanto vertical. Esse procedimento permitiu avaliar, de forma quantitativa, a extensão dos danos causados por cada isolado no hospedeiro (Figura 10).

Na Figura 10, observa-se que a cultura mista composta por *F. solani* e *F. oxysporum* e o isolado de *F. oxysporum* não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si, mas ambos se diferenciam da testemunha, evidenciando sua patogenicidade.

Figura 10. Severidade da podridão seca de *Fusarium* spp. após inoculação com *F. solani* e *F. oxysporum*. Onde testemunha foi inoculado apenas água destilada esterilizada; C.M= Cultura mista (*F. solani* e *F. oxysporum*), foi inoculada a uma suspensão de 5×10^6 conídios por mL e F.o = *F. oxysporum* a uma suspensão de 5×10^6 conídios por mL.



Fonte: Do autor, 2024.

Todos os testes mencionados anteriormente serão aplicados à cultura pura de *F. solani*. No entanto, até o momento, não foi possível separar esse patógeno, que está associado ao *F. oxysporum*, resultando em uma cultura mista. Existe a hipótese de que essa associação esteja intrínseca, o que dificulta a separação a partir de um único esporo.

4 CONCLUSÃO

As evidências reforçam que os dados moleculares e fenotípicos estão alinhados, confirmando a identidade de *F. oxysporum* - CFF 01. A coocorrência de *F. solani* e *F. oxysporum* não apresentam diferenças significativas na severidade da podridão seca nos tubérculos de batata.

5 REFERÊNCIAS

AZEVEDO, Wagner Santos Lima *et al.* **Produção de batata (*Solanum tuberosum*) em sistemas familiares agroecológicos no Agreste da Borborema, Paraíba. Cadernos de Agroecologia**, v. 13, n. 1, 2018.

AZIL, Nadia *et al.* **Identification and pathogenicity of *Fusarium* spp. associated with tuber dry rot and wilt of potato in Algeria. European Journal of Plant Pathology**, v. 159, n. 3, p. 495-509, 2021.

AKOSAH, Yaw A. *et al.* ***Fusarium oxysporum* strains from wilting potato plants: Potential causal agents of dry rot disease in potato tubers. Research on Crops**, v. 22, n. spl, p. 49-53, 2021.

BARNETT, Horace Leslie; HUNTER, Barry B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 4. ed. Minnesota: American Phytopathological Society, 1998.

BIBI, Arsh *et al.* **Morpho-Molecular Identification of *Fusarium equiseti* and *Fusarium oxysporum* Associated with Symptomatic Wilting of Potato from Pakistan. Journal of Fungi**, v. 10, n. 10, p. 701, 2024.

CHEN, Dahu *et al.* **A simple and efficient inoculation method for *Fusarium* dry rot evaluations in potatoes. American Journal of Potato Research**, v. 97, p. 265-271, 2020.

EL-NAGAR, Asmaa S. *et al.* **Morphological and molecular identification of *Fusarium incarnatum* as the causal agent of potato dry rot disease. Journal of Sustainable Agricultural and Environmental Sciences**, v. 3, n. 4, p. 68-73, 2024.

FERNANDEZ, Myrian Rosa. **Manual para laboratório de fitopatologia**. 1. ed. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 1993. 128 p.

GHERBAWY, Youssuf A. *et al.* **Identification of *Fusarium* spp. associated with potato tubers in upper Egypt by morphological and molecular characters. Asian Journal of Biochemistry, Genetics and Molecular Biology**, v. 2, n. 3, p. 1-14, 2019.

IBGE; Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Paraíba, 2020** Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/home/lspa/pernambuco>. Acesso em: 27 out. 2024.

IBGE; Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agropecuária.** Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/busca.html?searchword=senso+agropecuario+2023>.

Acesso em: 30 out. 2024. INGUAGGIATO, Felipe Facci et al. A PRODUÇÃO ORGÂNICA EM MINAS GERAIS:

Onde estão os agricultores orgânicos?. **15º JORNADA CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA E 12º SIMPÓSIO DE PÓS-GRADUAÇÃO DO IFSULDEMINAS**, v. 14, n. 1, 2022.

KHEDHER, Saoussen Ben et al., **Biological potential of *Bacillus subtilis* V26 for the control of *Fusarium* wilt and tuber dry rot on potato caused by *Fusarium* species and the promotion of plant growth.** *Biological Control*, v. 152, p. 104444, 2021.

LANGERFELD, E. Methoden bei der **Prüfung der Reaktion von Kartoffelsorten gegen Lagerfauleerreger der Gattung *Fusarium*.** potato disease assessment keys. **European Association for Potato Research, section for pathology, Committee for Disease Assessment**, p. 101-110, 1987.

LESLIE, John F.; SUMMERELL, Brett A. (org). **The *Fusarium* laboratory manual.** 1.ed. Australian-American. 2008. 416 p.

O'DONNELL, Kerry. **Ribosomal DNA internal transcribed spacers are highly divergent in the phytopathogenic ascomycete *Fusarium sambucinum* (*Gibberella pulicaris*).** *Current genetics*, v. 22, p. 213-220, 1992.

PEREIRA, Arione da Silva; SUINAGA, Fabio Akiyoshi. **Introdução e importância econômica.** FERNANDES, Adalton Mazetti *et al.* (org). **Sistema de produção de batata.** Brasília, Embrapa Hortaliças, 2015. *E-book*. 252p.

PEREIRA, João Vitor da Silva. **Bioprospecção de bactérias para o controle da podridão seca (*Fusarium* sp.) em batateira.** 2023.28f. Trabalho de conclusão de curso (Agroecologia) - Universidade estadual da Paraíba, Lagoa Seca.

SANTOS, Cleberly Evangelista dos. **O patossistema *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*-tomateiro no Brasil: variabilidade de genes efetores, marcadores moleculares e estabilidade do gene de resistência I-7.** 2023. 95 p., il. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2023.

STEFANČZYK, Emil et al. **Diversity of *Fusarium* spp. associated with dry rot of potato tubers in Poland.** *European Journal of Plant Pathology*, v. 145, p. 871-884, 2016.

SUINAGA, Fabio Akiyoshi; PEREIRA, Arione da Silva. **Introdução e importância econômica.** FERNANDES, Adalton Mazetti *et al.* (org). **Sistema de produção de**

batata. Brasília, Embrapa Hortaliças, 2015. *E-book*. 252p.

TIWARI, Rahul Kumar et al. **Impact of *Fusarium* infection on potato quality, starch digestibility, in vitro glyceic response, and resistant starch content.** *Journal of Fungi*, v. 9, n. 4, p. 466, 2023.

TÖFOLI, Jesus Guerino.; RICARDO José. **Sintomatologia, etiologia e manejo de doenças causadas por fungos e chromistas na cultura da batata.** *O Biológico*, v. 84, p. 1-76, 2022.

VALLURU, Ramanjulu et al. **Inheritance and stability of resistance to *Fusarium* tuber rot in tetraploid potatoes.** *American journal of potato research*, v. 83, p. 335-341, 2006.

VATANKHAH, Masoumeh et al. **Evaluation of some fungicides for the control of *Fusarium* dry rot of potato.** *Journal of Crop Protection*, v. 8, n. 3, p. 275-285, 2019.

XUE, Huali; LIU, Qili; YANG, Zhimin. **Pathogenicity, mycotoxin production, and control of potato dry rot caused by *Fusarium* spp.: a review.** *Journal of Fungi*, v. 9, n. 8, p. 843, 2023.

YANG, Yongqing et al. **Characterisation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in Infected Tomatoes in Inner Mongolia, China.** *Journal of Fungi*, v. 10, n. 9, p. 622, 2024.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Cicleide Gomes da Silva, minha maior inspiração. Ela me ensinou que a persistência e o esforço são os pilares que nos sustentam, e sem suas lições e seu amor incondicional, eu jamais teria chegado até aqui. Tudo o que sou devo a ela.

Ao meu pai, Joseildo do Nascimento Pereira, que mesmo sem ter tido acesso à educação básica, sempre incentivou os estudos dos filhos e se fez presente da forma como compreende o amor.

Aos meus avôs (José Gomes Filho e Ivo Amaro Pereira) e avós (Carmelita Corrêa e Maria da Paz), por serem os criadores e incentivadores da minha história. Através do trabalho, do exemplo e dos valores que me passaram, moldaram minha visão de mundo e plantaram as sementes do conhecimento e da perseverança que hoje colho.

À minha prima Natália Gomes, por ser uma presença indispensável em minha vida. Seu apoio constante, confiança nas minhas escolhas e ajuda nos momentos mais difíceis foram fundamentais para que eu chegasse até aqui. Sua presença sempre foi e sempre será essencial. Obrigado por ser um pilar de força e inspiração.

À minha orientadora e amiga, Élide Barbosa Corrêa, cujos ensinamentos

transcenderam a pesquisa. Obrigado por sua paciência, apoio incansável e por acreditar em mim, mesmo quando eu duvidava. Você não só me orientou, mas também me deu as asas para que eu pudesse alçar meus próprios voos. Sem o seu incentivo, este trabalho seria apenas um sonho distante.

À professora Camila Firmino de Azevedo pela constante disponibilidade em compartilhar seu conhecimento de maneira acessível e por sempre oferecer apoio aos seus alunos, tanto no âmbito acadêmico quanto pessoal. Sua dedicação e sensibilidade foram fundamentais no meu desenvolvimento, e sou grato por seu exemplo e orientação ao longo dessa jornada.

Ao Laboratório de Micologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA) pelo apoio essencial durante a realização deste trabalho. Em especial, gostaria de expressar minha gratidão ao Professor Dr. Ludwig Heinrich Pfenning pela orientação, assim como a doutoranda Janaína Sousa e ao doutorando Egídio José pela colaboração pela troca de conhecimento. Agradeço também a todos os demais integrantes do laboratório que contribuíram direta ou indiretamente para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Laboratório de Patologia de Sementes (LAPS), onde pude realizar todos os ensaios essenciais para o desenvolvimento deste trabalho, proporcionando o suporte técnico e as condições adequadas para cada etapa experimental. Expresso também minha gratidão à professora Carolina Siqueira pelo valioso apoio e orientação, que foram fundamentais para a condução e o aprimoramento desta pesquisa.

Ao meu companheiro Tiago Yukio, cuja ajuda e parceria foram fundamentais na construção deste projeto. Seu apoio constante e colaboração foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço imensamente à minha amiga Nárcya Trindade por toda a ajuda e dedicação, que foram fundamentais ao longo deste trabalho.

À Universidade Estadual da Paraíba, que me proporcionou um ambiente de aprendizado enriquecedor, com laboratórios e professores excepcionais. Agradeço por cada oportunidade de crescer e por todo o suporte ao longo da minha caminhada acadêmica.

Às minhas queridas amigas de curso, que estiveram ao meu lado em cada passo dessa jornada. Vocês foram mais que colegas, foram o meu alicerce. Agradeço por cada palavra de incentivo, cada momento de apoio e pela presença constante. A amizade de vocês transformou essa trajetória em algo muito mais leve e especial.