

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO CARLOS
ALBERTO REYES MALDONADO - UNEMAT
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
MELHORAMENTO DE PLANTAS- PGMP**

ALANA RAQUEL PIRES

**AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA DE ESPÉCIES DE *PASSIFLORA*
INOCULADAS COM *Fusarium annulatum***

ALTA FLORESTA
MATO GROSSO, BRASIL
FEVEREIRO- 2025

ALANA RAQUEL PIRES

**AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA DE ESPÉCIES DE *PASSIFLORA*
INOCULADAS COM *Fusarium annulatum***

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^a. Dra. Isane Vera Karsburg.

Coorientador: Prof. Dr. Darley Aparecido Tavares Ferreira.

ALTA FLORESTA
MATO GROSSO, BRASIL
FEVEREIRO- 2025

Ficha catalográfica elaborada pela Supervisão de Bibliotecas da UNEMAT
Catalogação de Publicação na Fonte. UNEMAT - Unidade padrão

P667a Pires, Alana Raquel.

AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA DE ESPÉCIES DE PASSIFLORA INOCULADAS
COM *Fusarium annulatum* / Alana Raquel Pires. - Cáceres, 2025.
52f.: il.

Universidade do Estado de Mato Grosso "Carlos Alberto Reyes
Maldonado", Genética e Melhoramento de Plantas/CAC-PGMP - Alta
Floresta - Mestrado Acadêmico, Campus Universitário De Cáceres
"Jane Vanini".

Orientador: Isane Vera Karsburg.

1. Fitopatologia. 2. Patógeno. 3. Fruticultura. I. Karsburg,
Isane Vera. II. Título.

UNEMAT / MTSCB

CDU 581.2

AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA DE ESPÉCIES DE *PASSIFLORA* INOCULADAS COM *Fusarium annulatum*

ALANA RAQUEL PIRES

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^a. Dra. Isane Vera Karsburg

Coorientador: Prof. Dr. Darley Aparecido Tavares Ferreira.

Aprovada em 27 fevereiro de 2025

Comissão Examinadora



Documento assinado digitalmente

ISANE VERA KARSBURG

Data: 11/03/2025 09:33:36-0300

Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof^a. Dra. Isane Vera Karsburg

Orientadora- UNEMAT – Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado.



Documento assinado digitalmente

DARLEY APARECIDO TAVARES FERREIRA

Data: 12/03/2025 09:51:27-0300

Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Darley Aparecido Tavares Ferreira

UNEMAT- Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado



Documento assinado digitalmente

MARCO ANTONIO CAMILLO DE CARVALHO

Data: 12/03/2025 15:46:50-0300

Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Marco Antônio Camillo de Carvalho

UNEMAT- Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado



Documento assinado digitalmente

DOUGLAS MACHADO LEITE

Data: 13/03/2025 08:54:19-0300

Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Dr. Douglas Machado Leite

UFLA- Universidade Federal de Lavras

BIOGRAFIA

Alana Raquel Pires, nascida em 19 de agosto de 1995 na cidade de Carlinda em Mato Grosso, Bacharel e Licenciada em Ciências Biológicas pela Universidade do estado de Mato Grosso, “Carlos Alberto Reyes Maldonado” UNEMAT, *campus* de Alta Floresta- MT no ano de 2022. Em fevereiro de 2023, ingressou no Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas- PGMP, na linha de pesquisa em Biotecnologia e Recursos Genéticos Vegetais na Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT, Alta Floresta, MT.

Dedico este trabalho, primeiramente a Deus, por me conceder força e proteção em cada etapa, e a minha família, pelo apoio ao longo de toda a jornada do Mestrado.

AGRADECIMENTOS

Escrever uma dissertação é, sem dúvidas uma experiência extraordinária. Ainda que a pesquisa seja um processo solitário em alguns momentos, não cheguei até aqui sozinha. Contar com uma equipe de apoio foi fundamental, e reconhecer o quanto recorri aos recursos disponibilizados por eles para enfrentar a minha jornada: educação, orientação, apoio, empatia e compreensão...

Agradeço primeiramente a Deus pela vida, saúde, dedicação, competência e proatividade que me permitiram superar os desafios ao longo dessa maratona.

Aos meus pais, Ivânia Pires e Moisés Zanardi. Procurei honrar em toda a minha trajetória o esforço que fizeram pela minha educação. Não haveria jornada se eles não tivessem aberto o caminho para mim. Agradeço, ainda, ao carinho, incentivos dos meus irmãos Aline Pires e André Pires por explicar aos meus sobrinhos a ausência da tia Lana nos aniversários da Família Pires.

Aos colegas do Laboratório Didático e Citologia Vegetal. Especialmente Edmar pela parceria, troca de conhecimento durante o processo e a minha querida amiga Lúcia Ebúrneo, que desde a graduação tem me inspirado a querer mais do que a vida pode oferecer e a incentivar que eu sou capaz de muita coisa.

A minha orientadora, Prof, Dra. Isane Vera Karsburg, por ter aceitado ser a minha orientadora. Ao Prof. Dr. Darley Aparecido Tavares Ferreira por compartilhar o mundo dos maracujazeiros comigo, bem como incentivar e vibrar junto a cada resultado alcançado.

À Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT)- *Campus* Alta Floresta e ao Programa de Pós- graduação em Genética e Melhoramento de Plantas (PGMP), pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

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

A todos que, mesmo indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

RESUMO

PIRES, ALANA RAQUEL. Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado, fevereiro de 2025. Avaliação da tolerância de espécies de *Passiflora* inoculadas com *Fusarium annulatum*. Orientadora: Isane Vera Karsburg, coorientador: Darley Aparecido Tavares Ferreira.

O Brasil, considerado o centro de origem do gênero *Passiflora*, destaca-se como o maior produtor mundial de maracujazeiro (*Passiflora edulis*). Esta cultura tem grande relevância econômica e social, especialmente para a agricultura familiar. Em 2022, a produção nacional de maracujá atingiu 711.278 toneladas, distribuídas em 45.761 hectares. Contudo, a produtividade da cultura tem sido afetada pelo aumento da incidência de doenças, em especial as causadas por patógenos de solo do gênero *Fusarium*, que comprometem pomares e geram grandes perdas econômicas. A falta de métodos eficazes de controle químico torna o melhoramento genético uma alternativa viável, com ênfase no uso de genótipos silvestres como fonte de resistência. Este estudo teve como objetivo caracterizar um isolado de *Fusarium* spp. e avaliar a respostas de três espécies de *Passiflora*, *Passiflora miniata*, *Passiflora cristalina* e *Passiflora edulis* à inoculação do patógeno. O estudo foi realizado na Universidade do Estado de Mato Grosso, campus Alta Floresta-MT, Campus II (Laboratório Didático I). A pesquisa incluiu a análise da patogenicidade do isolado, a identificação molecular do fungo e a avaliação da tolerância das espécies de maracujá à infecção. Os isolados de *Fusarium* foram obtidos a partir de plantas de maracujá com sintomas de fusariose em Carlinda-MT, foram repicados em meio BDA (Ágar Batata Dextrose), incubados a 25°C por sete dias e identificados por métodos microscópicos e sequenciamento genético. Foram utilizados dois métodos de inoculação, discos de micélio e imersão de raízes em suspensão de conídios, ajustada a $(1 \times 10^6 \text{ conídios mL}^{-1})$ por 24h, posteriormente as plantas foram transplantadas. A avaliação foi até aos 90 dias, os sintomas e a sobrevivência das mudas foram monitorados. O delineamento utilizado para o plantio das sementes foi inteiramente casualizado (DIC), esquema fatorial duplo 2x3, com dois fatores: metodologia de inoculação (discos de micélio e imersão de raízes) e genótipos (*P. miniata*, *P. cristalina*, e *P. edulis*), com 10 repetições por tratamento. As análises foram descritivas. Seis isolados de *Fusarium annulatum* foram confirmados, e a caracterização molecular do isolado FOP-05 revelou 99% de identidade genética com outras cepas depositadas no GenBank. Este é o primeiro estudo a relatar *Fusarium annulatum* em raízes de maracujazeiro, sugerindo uma adaptação do fungo a novos hospedeiros. No teste de patogenicidade com discos de micélio, o fungo não causou morte nas plantas, mas afetou o crescimento das espécies *P. miniata* e *P. cristalina*, com sintomas de amarelamento. A *P. edulis* demonstrou tolerância, sem sintomas graves até 90 dias após a inoculação. A metodologia de inoculação com suspensão mostrou que o fungo pode colonizar o substrato sem causar danos imediatos, e a resposta das plantas indica uma possível adaptação ou tolerância ao patógeno, destacando a variabilidade genética da espécie e a importância de métodos de monitoramento prolongado para compreender a interação hospedeiro-patógeno. Portanto, a pesquisa identificou que até aos 90 dias as espécies testadas, podem apresentar algum grau de tolerância ao patógeno, embora um período de avaliação prolongado nos futuros trabalhos seja necessário para compreender ainda mais a biologia dos genótipos e o grau de patogenicidade do fungo. Além disso, este estudo contribui para o aprofundamento do entendimento sobre a diversidade e a fitogeografia de *F. annulatum*, destacando a importância do monitoramento fitossanitário dessa espécie nos pomares de maracujás.

Palavras-chave: Fitopatologia, patógeno, fruticultura.

ABSTRACT

PIRES, ALANA RAQUEL; University of the State of Mato Grosso; february 2025. Evaluation of tolerance of *Passiflora* species inoculated with *Fusarium annulatm*. Advisor: Isane Vera Karsburg, Co-supervisor: Darley Aparecido Tavares Ferreira.

Brazil, considered the center of origin of the *Passiflora* genus, stands out as the world's largest producer of passion fruit (*Passiflora edulis*). This crop has significant economic and social importance, especially for family farming. In 2022, the national production of passion fruit reached 711, 278 tons, spread across 45, 761 hectares. However, the productivity of the crop has been affected by the increased incidence of diseases, especially those caused by soil pathogens of the *Fusarium* genus, which compromise commercial orchards and result in significant economic losses. The lack effective chemical control methods makes genetic improvement a viable alternative, with an emphasis on using wild genotypes as a source of resistance. This study aimed to characterize a *Fusarium* spp. isolate and evaluate the response of three *Passiflora* species, *Passiflora miniata*, *Passiflora cristalina*, and *Passiflora edulis* to pathogen inoculation. The study was conducted at the State University of Mato Grosso, Alta Floresta- MT, campus II (Didactic Laboratory I). The research included the analysis of the pathogenicity of the isolate, molecular identification of the fungus, and the evaluation of the tolerance of passion fruit species to infection. The research included the analysis of the pathogenicity of the isolate, the molecular identification of the fungus, and the evaluation of the tolerance of passion fruit species to infection. The *Fusarium* isolates were obtained from passion fruit plants with fusariosis symptoms in Carlinda- MT, subcultured on PDA (Potato Dextrose Agar), incubated at 25° C for seven days and identified by microscopic methods and genetic sequencing. Two inoculation methods were used: mycelium discs and root immersion in a conidial suspension, adjusted to (1×10^6 conidia mL⁻¹) for 24 hours. Subsequently, the plants were transplanted. The evaluation lasted up to 90 days, and the symptoms and survival of the seedlings were monitored. The experimental design used for seed planting was a Completely Randomized Design (CRD) in a 2x3 factorial scheme, with two factors: inoculation methodology (mycelium discs and root immersion) and genotypes (*P. miniata*, *P. cristalina* e *P. edulis*), with 10 repetitions per treatment. The analyses were descriptive. Six isolates of *Fusarium* were confirmed, and the molecular characterization of the FOP-05 isolate revealed 99% genetic identity with other strains deposited in GenBank. This the first study to report *Fusarium annulatum* in passion fruit roots, suggesting an adaptation of the fungus to new hosts. In the pathogenicity test with mycelium discs, the fungus did not cause plant death but affected the growth of the species *P. miniata* and *P. cristalina*, showing symptoms of yellowing. *P. edulis* showed tolerance, with no severe symptoms up to 90 days after inoculation. The inoculation methodology with suspension showed that the fungus can colonize the substrate without causing immediate damage, and the plant response indicates a possible adaptation or tolerance to the pathogen, highlighting the genetic variability of the species and the importance of prolonged monitoring methods to understand the host pathogen- interaction. Therefore, the research identified that up to the 90 days, the tested species may exhibit some degree of tolerance to the pathogen, although a prolonged evaluation period in future studies is necessary to further understand the biology of the genotypes and the degree of pathogenicity of the fungus. In addition, this study contributes to the deepening of the understanding of the diversity and phytogeography of *F. annulatum*, highlighting the importance of phytosanitary monitoring of this species in passion fruit orchards.

Keywords: phytopathology, pathogen, fruit growing.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 Aspectos gerais da cultura do Maracujazeiro.....	14
2.2 Importância Social, ecológica e comercial.....	15
2.3 Caracterização das espécies <i>P. miniata</i> e <i>Passiflora cristalina</i>	16
2.4 Principais doenças que atacam o maracujazeiro.....	17
2.5 <i>Fusarium annulatum</i> : principais registros.....	19
2.6 Melhoramento genético da cultura do maracujazeiro: avanços e desafios.....	21
3. Material e Métodos.....	22
3.1 Área de estudo	22
3.2 Obtenção do isolado fúngico e isolamento indireto do patógeno.....	22
3.3 Identificação direta e caracterização das colônias fúngicas dos isolados.....	24
3.4 Isolamento de culturas puras em meio de cultivo para a produção dos inóculos.....	25
3.5 Caracterização Molecular	25
3.6 Preservação dos isolados sequenciados.....	26
3.7 Avaliação da tolerância de espécies de <i>Passiflora miniata</i> , <i>Passiflora cristalina</i> e <i>Passiflora edulis</i> ao <i>Fusarium</i> spp pelo método de imersão de raízes em suspensão de conídios.....	26
3.8 Avaliação da tolerância de espécies de <i>Passiflora miniata</i> , <i>Passiflora cristalina</i> e <i>Passiflora edulis</i> ao <i>Fusarium</i> spp pelo método de inoculação com discos de micélio.....	28
3.9 Avaliação Pós inoculação.....	29
3.10 Confirmação da Patogenicidade- Ensaio de postulado de Koch.....	30
3. 11 Delineamento.....	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
4.1 Isolamento e caracterização do fungo.....	31
4.2 Identificação molecular do fungo.....	34
4.3 Teste de patogenicidade de <i>Fusarium annulatum</i>	35
4.4 Avaliações pós- inoculação.....	36
4.5 Validação da Patogenicidade (Postulado de Koch)	42
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	43
6. CONCLUSÃO	43
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44

1 . INTRODUÇÃO

A família Passifloraceae apresenta uma ampla diversidade genética, abarcando cerca de 750 espécies. Destas, 560 pertencem ao gênero *Passiflora* L., que é o mais abrangente da família. A maioria das espécies são lianas, trepadeiras herbáceas ou lenhosas e estão distribuídas geograficamente na região Neotropical (Bernacci et al., 2025). As espécies desse gênero são economicamente exploradas em diversos países com climas tropicais e subtropicais, com destaque para *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deneger, comumente conhecida como maracujá-azedo.

O Brasil é considerado o centro de origem da *Passiflora*, um dos mais ricos em diversidade de maracujazeiros em todos os domínios fitogeográficos, com 163 espécies nativas e 93 endêmicas (Bernacci et al., 2025). Além da diversidade, mundialmente o país é o maior produtor de maracujazeiro, alavancando o setor agrícola com produção de 711. 278 toneladas em 45.761 hectares de área colhida (IBGE, 2023).

O cultivo do maracujá-azedo está entre as principais fruticulturas que traz um retorno econômico rápido, de grande rentabilidade para os produtores. Além de proporcionar uma oportunidade rotativa de renda ao longo do ano. Com essa versatilidade de mercado o produto mantém-se valorizado (Faleiro; Junqueira, 2016). No entanto, nas últimas décadas a produtividade vêm sofrendo um declínio. Principalmente na região Centro-Oeste houve uma diminuição na produção de maracujazeiro, que em 2010 apresentou 27.741 t e reduziu em 2023 para 15.553 t (IBGE 2023). Impactando diretamente na economia da fruticultura nacional, consequentemente no setor estratégico do agronegócio e a segurança alimentar.

A longevidade dos pomares está aquém do esperado e entre os vários fatores que vêm contribuindo para a diminuição da produtividade da passicultura, destacam-se as doenças causadas por vírus e patógenos presentes no solo. No conglomerado de doenças que atacam e inviabilizam o cultivo de maracujazeiro-azedo predominam-se as doenças causadas por fungos do gênero *Fusarium* (Melo et al., 2019). *Fusarium* é um dos patógenos vegetais amplamente estudado na fitopatologia devido à sua capacidade de produzir micotoxinas e ao seu elevado potencial de causar devastação em diversas culturas com valor econômico agregado, representando uma ameaça à segurança alimentar (www.fusarium.org).

O gênero *Fusarium* é amplamente reconhecido como um dos mais relevantes para a fitopatologia, abrangendo mais de 330 espécies. Dentre elas, *Fusarium graminearum* s. lat. e *Fusarium oxysporum* s. lat. destacam-se por serem os mais estudados, pela produção de micotoxinas e à capacidade de causar doenças em plantas e animais (Yilmaz et al., 2021). As

espécies mais comuns de fungos fitopatogênicos transmitidos pelo solo nas diferentes culturas agrícolas são espécies de *F. oxysporum* (Lombard et al., 2019) e de *Neocosmospora* spp. anteriormente conhecidas como *Fusarium solani* (Sandoval Denis et al., 2019).

Entre as principais doenças, a murcha de *Fusarium* ou Fusariose causada pelo patógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* (FOP) tem erradicado muitos pomares de maracujá-azedo (suscetível). Nas últimas décadas a proporção de plantas infectadas preocupa os produtores. O potencial de contaminação desse patógeno tem afetado consideravelmente os setores da fruticultura, as questões fitossanitárias limitam a expansão dos pomares, resultando em perdas econômicas, áreas de cultivo inviáveis e abandono desta atividade por parte dos produtores (Pereira et al., 2019).

Essa resiliência do fungo em permanecer no solo, se deve também a ecologia das espécies de *Fusarium* que são saprófitos e oportunistas, habitam no solo e sobrevivem de matéria orgânica, restos de culturas agrícolas da safra anterior. Na ausência de um hospedeiro sobrevive por exemplo, na forma de estruturas de resistência denominadas clamidósporos, a qual conferem uma permanência do fungo no ambiente por muitos anos. Isso compromete o manejo fitossanitário da doença e inviabiliza a área de cultivo (Yilmaz et al., 2021).

A biologia do gênero *Fusarium* é complexa, com diversas lacunas no entendimento de sua interação com plantas hospedeiras. Aspectos como o processo de colonização do sistema radicular, o papel dos exsudatos das raízes, a influência da estrutura da hipoderme e a resposta dos tecidos corticais à infecção sistêmica pelo patógeno, carece de muita informação (Gordon, 2017). Por outro lado, a “batalha entre patógeno e hospedeiro” está muito distante de acabar, a cada ano são descobertas novas cepas de *Fusarium* e a plasticidade quanto adaptação e contaminação das espécies só evolui.

Os fusarióides estão cada vez mais expandindo sua patologia nas diversas culturas agrícolas. Na fruticultura, até o momento, não há nenhum controle químico eficiente para erradicar a Fusariose dos pomares brasileiros (Agrofit, 2024). A aplicação dos pesticidas disponíveis ainda possui baixa eficiência e alta contaminação ao meio ambiente (Portolan et al., 2020). Dessa forma, o melhoramento genético surge como uma ferramenta essencial para mitigar os impactos dessa doença.

Nesse contexto, uma estratégia amplamente desenvolvida para enfrentar a “batalha genética entre patógeno e hospedeiro” na cultura do maracujazeiro, é a introdução de genótipos que sejam resistentes. O processo de enxertia de *P. edulis* enxertadas em passifloras silvestres tem se tornado uma alternativa promissora, que resultou na sobrevivência de plantas quando submetidas a áreas contaminada pelo FOP (Lima et al., 2021). No entanto, ainda há muito a ser

investigado sobre o potencial de resistência das espécies silvestres diante da diversidade do gênero *Fusarium*.

No estado de Mato Grosso, o gênero *Passiflora* apresenta grande variabilidade genética, representando importante recurso para programas de melhoramento. Porém, há carência de informações sobre o potencial de tolerância dessas espécies quando inoculadas com *Fusarium* spp. como *Passiflora miniata* e *Passiflora cristalina*, esta última endêmica de alguns municípios da região de Mato Grosso, descritas por Vanderplank; Zappi (2006, 2011). Ambas são rústicas, comuns em áreas degradadas e margens de estradas, mas ainda pouco estudadas, especialmente quanto à tolerância a patógenos do solo do complexo *Fusarium*.

Explorar esses recursos genéticos da região é essencial para promover a divulgação de conhecimento dos genótipos do gênero *Passiflora*, considerando que muitas espécies de maracujazeiros ainda não foram submetidas a testes de resistência aos patógenos do complexo *Fusarium*. Além disso, conhecer os fungos fitopatogênicos que tem como hospedeiro a *Passiflora* e outras culturas comerciais, são de extrema relevância do ponto de vista ambiental, econômico e social. Ao passo que, compreender a diversidade e a fitogeografia de espécies de *Fusarium* presente no ambiente é imprescindível para pesquisas futuras (Yilmaz et al., 2021).

A família Nectriaceae, à qual pertence o gênero *Fusarium*, é considerada altamente diversa. Esses fungos possuem distribuição cosmopolitas, podem ser encontrados em diferentes ambientes, como água, solo, ar, além de abrigar cepas patogênicas e não patogênicas e possuem alta capacidade de associarem-se a animais (Lombard et al., 2018). Destacam-se, principalmente, por sua habilidade em colonizar uma ampla variedade de hospedeiros. Contudo, as características morfológicas e ecológicas do gênero ainda não são completamente elucidadas (Crous et al., 2021). Assim, registrar ocorrência de *Fusarium* nos hospedeiros constitui uma maneira de ampliar o conhecimento sobre o gênero e consequentemente incrementar o melhoramento genético das *Passifloraceae*.

Diante disso, o presente estudo teve como objetivo identificar e caracterizar um isolado de *Fusarium* spp. associados à podridão radicular de *Passiflora edulis*, com base em características morfológicas e dados moleculares. Além disso, foi avaliado o potencial de tolerância de *Passiflora edulis*, *P. miniata* e *P. cristalina* submetidas ao fungo.

2 . REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais da cultura do Maracujazeiro

Passiflora L. pertence à família Passifloraceae Juss, gênero com muita diversidade de maracujazeiros, compreende aproximadamente 560 espécies morfológicamente distintas, amplamente distribuídas em várias regiões brasileiras (Bernacci et al., 2025).

Apesar de não ser endêmico do Brasil, apresenta ampla distribuição geográfica, ocorre em todas as regiões do país: Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sul e Sudeste. E nos principais biomas: Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal (Bernacci et al., 2025).

No Brasil, é popularmente conhecido pelo nome indígena "maracujá". Inicialmente, o gênero foi subdividido em 22 subgêneros, mas hoje são reconhecidos seis, dos quais quatro ocorrem no Brasil: *Passiflora* subg. *Astrophea* (DC.) Mast., *Passiflora* subg. *Decaloba* (DC.) Rchb., *Passiflora* subg. *Deidamioides* (Harms) Killip e *Passiflora* subg. *Passiflora* (Bernacci et al., 2025).

De acordo com Bernacci et al. (2025), as passifloras apresentam hábito predominantemente, como trepadeiras, herbáceas ou lenhosas. Essas plantas geralmente possuem gavinhas localizadas nas gemas axilares e podem alcançar alturas entre 8 e 10 metros. Os caules podem ser cilíndricos, achatados ou quadrangulares e rígidos. A características fenotípica das folhas é diversificada, podendo variar entre formas elípticas, inteiras, lobadas, com margens serrilhadas. No pecíolo, é comum a presença de glândulas nectaríferas. As folhas podem ser alternadas, pecioladas, simples ou denteadas. As brácteas podem ser lineares, setáceas, elípticas, caducas ou persistentes.

As flores de *Passiflora* são actinomorfas, pentâmeras, hermafroditas e chamativas, apresentando variações de cor que vão do branco ao vermelho intenso, esverdeado, púrpura, roxo e róseo, com uma corona de filamentos dispostos em séries. As sépalas são carnosas, frequentemente com aspecto membranáceo. As flores podem se abrir em diferentes períodos do ano, sendo que algumas permanecem abertas durante o dia, enquanto outras se abrem no período matutino e fecham à tarde.

A polinização das espécies de *Passiflora* é realizada principalmente por abelhas (melitofilia) durante o período diurno, mas também ocorre por beija-flores (ornitofilia). À noite, as flores são polinizadas por mariposas (esfingofilia) e morcegos (quiropterofilia). Os frutos do

maracujazeiro são do tipo baga, indeiscentes, de casca amarela, com formato oval ou oblongado.

Estudos sobre polinização e compatibilidade de *Passiflora* afirmam que a maioria das espécies que são comercializadas possuem mecanismos de autoincompatibilidade. Desse modo, elas são plantas de polinização cruzada, necessitando do cruzamento com flores de outras plantas da mesma espécie para a reprodução (Faleiro et al., 2019).

2.2 Importância social, ecológica e comercial

O maracujá-azedo, maracujá-roxo (*P. edulis*) e maracujá-doce (*Passiflora alata*) são as espécies mais cultivadas no País, que é um dos principais centros de diversidade genética do gênero *Passiflora*. L, tendo como destaque econômico o maracujá amarelo (*P. edulis*). Entretanto, apesar da grande biodiversidade da família Passifloraceae há poucas espécies exploradas no Brasil. A caracterização genética e os programas de melhoramento continuam limitados, frente a variabilidade genéticas das espécies ainda não estudadas, que compõem o maior gênero da família (Cerqueira Silva et al., 2016).

O Brasil sendo um importante centro de diversidade genética desse gênero, as espécies mantidas nos bancos de germoplasma possuem potenciais desconhecidos e/ou poucos explorados na forma prática em programas de melhoramento (Gonçalves et al., 2018). Desse modo, é de extrema significância estudos voltados para a exploração desses recursos genéticos disponíveis.

A nível global, são reconhecidas 12 espécies de maracujás que são comercializadas, entre elas a *Passiflora edulis*, *Passiflora alata* Curtis, *Passiflora setacea* DC, *Passiflora ligularis* Juss, *Passiflora tripartita* Juss, *Passiflora maliformis* L., *Passiflora quadrangularis* L., *Passiflora cincinnata* Mast, *Passiflora nitida* Kunth e *Passiflora incarnata* L. (Carlosama et al., 2020). Essas espécies se destacam pelo potencial comercial e ornamental.

O maracujá-azedo *P. edulis*, possui relevância econômica e social a nível mundial. O cultivo dessa fruticultura é uma atividade rentável. Apesar do investimento inicial ser elevado, a cultura promete retorno financeiro significativo, uma vez que a fruta possui alto valor comercial. Isso tem despertado o interesse dos agricultores, visto que a fruticultura é um dos principais setores responsáveis por gerar renda, emprego e desenvolvimento no meio rural. De acordo com Faleiro e Junqueira (2016), além do maracujazeiro-azedo e doce, espécies silvestres que também possui propriedades de alto potencial agro econômico no país, espécies como *P. setacea*, *P. cincinnata*, *P. nítida* e *Passiflora foetida* L, entre outros híbridos interespecíficos de

maracujás.

Neste cenário, a produtividade da cultura está intimamente relacionada na introdução de cultivares mais produtivas, resistentes e adaptadas às diversas regiões do país (Meletti, 2011). Assim, o plantio do maracujazeiro tem se expandido exponencialmente e se configurando como uma das principais fruticulturas de interesse econômico por parte dos pequenos produtores rurais, gerando renda, permanência no campo e segurança alimentar (Faleiro et al., 2019).

Apesar da infinidade de interesse comercial da fruta, o real potencial econômico dessa fruticultura gira em torno da indústria alimentícia voltada para o processamento de sucos a partir da polpa *in natura* da fruta (Do Espírito Santo et al., 2012). *Passiflora* contém altos níveis de elementos essenciais que são absorvidos pelo corpo, como aminoácidos, vitaminas, sacarídeos, além de ser fonte de matéria prima para suplementos minerais, e principalmente cosméticos que nos últimos anos vários produtos foram patenteados, girando a economia farmacêutica (Nikolova et al., 2024). O processamento de alimentos e bebidas advindas da exploração do maracujá gera subprodutos e estimula o mercado consumidor. Diante dessa versatilidade, explorar o potencial dessas espécies é uma forma de valorizar os recursos naturais de maneira inteligente.

2.3 Caracterização das espécies *P. miniata*, *P. cristalina* e *Passiflora edulis*

Passiflora miniata Vanderpl. é uma espécie silvestre nativa da Amazônia meridional brasileira, é encontrada em países como a Colômbia, Bolívia, Peru, Venezuela e nas Guianas (Lim, 2012). São lianas, trepadeiras e possuem caule cilíndrico, com uma consistência lenhosa. Suas folhas são inteiras com consistência membranácea, com margens crenuladas. O fruto dessa espécie é tipo baga, com indumento presente, casca com aspecto “borrachudo” coloração verde com formato oval e de superfície foveoladas (Vanderplank, 2006; Bernacci et al., 2025). Os frutos são muito disputados pelos animais, principalmente pelos macacos. Suas flores com coloração vermelho vivo, cor intensa similar a *Passiflora coccínea*, atrativa para polinizadores e para setor de ornamentais (Vanderplank, 2006).

Passiflora cristalina Vanderpl. & Zappi, conhecida pouca mais de uma década, é uma planta silvestre da Amazônia, nativa de Mato Grosso. Assim como *P. miniata*, tem ocorrência em áreas degradadas e fragmentos florestais. São lianas, caule cilíndrico ou subangular, glabro, aspecto lenhoso. As folhas dessa espécie são inteiras com margens lisas, inflorescência solitária, brácteas possuem formato lanceolada, a flor é de cor vermelha, com presença de sépalas, corona

bisseriada, também possui androginóforo desenvolvido. O fruto de coloração creme da *P. cristalina* é do tipo baga, casca é mais resistente e exocarpo é quebradiço comparado com *P. miniata* que possui a casca macia. Assim como as sementes que são diferentes, as sementes de *P. miniata* tem a superfície lisa, enquanto em *P. cristalina* as sementes são de aspecto ápero, superfície reticulada (Bernacci et al., 2025).

Portanto, *P. miniata* e *P. cristalina* apesar de não serem populares no mercado, assim como o maracujá-azedo apresentam características promissoras para serem exploradas dentro do melhoramento genético. Visto que a fisiologia dessas espécies se adapta a ambientes com restrição hídrica e se mantém vigorosas ao decorrer do ano, sobrevivendo e se reproduzindo com os recursos disponíveis na área em que são plantadas.

De acordo com Vidal et al. (2018), a caracterização e a exploração dos genótipos de *Passiflora* têm o potencial de identificar fontes tolerância ou resistência genética, que podem ser empregadas no controle de doenças fitopatogênicas de solo. No entanto, estudos envolvendo essas espécies são incipientes comparado com *P. edulis*. Por dispor de genes poucos explorados e por serem espécies novas, faz-se necessário testar a fisiologia dessas plantas afim de compreender os mecanismos de adaptação e o potencial de resistência.

Passiflora edulis Sims, popularmente conhecida como maracujá-azedo, é a espécie de maior importância comercial entre os maracujás. Nativa do Brasil, sua distribuição geográfica abrange todo território nacional. A espécie pertence grupo das ao grupo das lianas e apresenta caule cilíndrico com consistência sublenhosa. As folhas são lobadas e possuem margens serrilhadas. As flores de *P. edulis* possuem coloração creme, com filamentos arroxeados, brácteas de formato ovalado a oblongo, uma corona de filamentos dispostos em série e um androginóforo bem desenvolvido. Os frutos são tipo bagas globosa, contendo sementes oblongas a elípticas. *P. edulis* é amplamente cultivada pelos agricultores e tem grande importância agrônômica no mercado de fruticultura brasileiro, sendo cultivada em diversas regiões do país (Bernacci et al., 2025).

2.4 Principais doenças que atacam o maracujazeiro

A murcha da Fusariose, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* foi inicialmente relatada em 1951 na Austrália (Mcknight, 1951). No Brasil, o primeiro registro da doença ocorreu no estado de São Paulo (Carvalho e Carvalho, 1968). Desde então, entre as

décadas de 1980 e 1990, o Brasil vem enfrentando desafios fitossanitários no cultivo do maracujazeiro (Kimati et al., 2005). A exploração econômica do maracujazeiro tem oscilado muito nos últimos anos e isso tem impactado na produtividade das áreas de cultivo. A suscetibilidade das cultivares comerciais e os problemas fitossanitários decorrentes de microrganismos fitopatogênicos tem afetado diretamente a cultura e desencadeado a perdas dos plantios (Meletti, 2011; Carvalho et al., 2015).

As doenças causadas por fungos, vírus e bactérias são os principais elementos que influenciam na diminuição da produtividade do maracujazeiro. Entre elas se destacam a antracnose tendo como agente causador o fungo (*Colletotrichum gloesporioides*), septoriose (*Septoria passiflorae*), verrugose (*Cladosporium herbarum*), bacteriose causada pela (*Xanthomonas axonopis* pv. *Passiflorae*), virose do endurecimento dos frutos causada pelo vírus (Cowpea aphid-borne mosaic virus -CABMV) (Liberato, 2002). E, não menos importante a podridão-do-colo da planta, causada pelo fungo *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. e a Murcha-de-fusário conhecida também como Fusariose, tendo como agente causador o *Fusarium oxysporum* f. sp. *Passiflorae*. (Silva et al., 2013).

A Fusariose, é uma doença que ataca o sistema vascular principalmente das raízes, não havendo um controle eficiente por meio da utilização de fungicidas (Silva et al., 2017). O fungo do gênero *Fusarium* possui capacidade de penetrar no sistema radicular das plantas por meio de pequenas lesões ou aberturas causadas por implementos agrícolas. Assim, o patógeno consegue acesso ao hospedeiro, as hifas então atacam e colonizam o tecido vascular do xilema provocando necroses tecidual gradativamente, até chegar ao ponto em que a infecção impede a absorção de água e nutrientes. Consequentemente, resulta na murcha da parte aérea, amarelamento das folhas e por fim, morte precoce da planta Lima et al., 2019).

Os fungos fusarióides, por serem saprófitos, alimentam-se de matéria orgânica da safra anterior. Permanecem "incubados" no solo na forma de clamidósporos, estruturas semelhantes a vesículas, altamente resistentes. Essas estruturas podem sobreviver por muitos anos no solo contaminado e, em condições favoráveis, infectam as plantas, perpetuando o ciclo de contaminação na área de cultivo. Agricultores locais relatam uma lacuna no manejo da cultura, especialmente no que diz respeito à interação entre patógeno e a planta hospedeira. Segundo esses relatos, os primeiros sintomas da doença nos pomares da região aparecem quando as plantas atingem a maturidade e iniciam o processo reprodutivo.

Nessa fase, ocorre o amarelamento das folhas, abortamentos das flores e a necrose das raízes. Dependendo da inclinação do terreno, a doença começa a se espalhar, em períodos de chuvas o processo da disseminação é intenso. Especula-se que os esporos dos fungos são carregados com a água contaminando o restante da cultura, causando a murcha e/ou morte das plantas de forma progressiva ao longo das linhas de cultivo, até que a morte total do pomar se torne inevitável.

. Esse cenário tem gerado preocupação entre os pequenos produtores, que na busca por soluções, investem recursos para tentar salvar a cultura e assegurar a renda da próxima safra. Esse esforço demanda tempo, gera desgaste e muito recurso financeiro. Consequentemente, contribui para o êxodo rural de agricultores familiares cuja renda, muitas vezes não é diversificada e depende exclusivamente do cultivo do maracujazeiro. Portanto, as buscas por estratégias que possam mitigar a morte do maracujazeiro por patógenos de solo são de grande relevância.

Essas enfermidades estão difundidas por todas as áreas de cultivo no Brasil e afetam a qualidade do fruto, resultando na depreciação de seu valor no mercado. Além disso, provocam uma queda na produtividade e no ciclo de produção da cultura (Joy et al., 2016). Sendo assim, utilizar recurso genético de genótipos superiores com qualidades fitossanitárias pode potencializar a produtividade das espécies que são comercializadas (Neves et al., 2013).

Neste contexto, a seleção de porta-enxertos com material genético resistentes podem ser uma alternativa, uma vez que, também não há cultivares disponíveis com essa capacidade (Silva et al., 2017). A resiliência do patógeno instigam pesquisadores a buscar alternativas para mitigar os impactos econômicos, como o desenvolvimento de cultivares mais resistentes, aplicação de técnicas de enxertia e estratégia de controle biológico. Contudo, os controles biológicos como *Trichoderma* spp., pode sofrer influência tanto de fatores bióticos como abióticos conferindo uma baixa eficiência na plantação e altos investimento (Bubici et al., 2019).

2.5 *Fusarium annulatum*: principais registros

O gênero *Fusarium* é muito diverso, os fungos são filamentosos, hialinos e cosmopolitas encontrados em diversos ambientes, desde sistemas de distribuição de água, solo, em plantas, animais e substratos orgânicos (Nelson et al., 1994). Por se tratar de um grupo taxonômico

complexo e por apresentar uma diversidade genética alta, a identificação das espécies passa por algumas limitações, controversas no âmbito taxonômico. Ao passo que a caracterização das espécies anteriormente descritas era baseada somente no caráter das características morfológicas dos conídios septados das espécies que por sua vez possui formato de canoa, curvadas ou semi curvadas a depender da espécie, assim como a estrutura reprodutiva assexuada (Leslie; Summerell, 2006).

Fusarium annulatum pertence ao complexo *Fsarium fujikuroi*, é conhecido dentro da fitopatologia como um patógeno vegetal. Foi estudado como sendo *Fusarium proliferatum* devido as características serem similares, no entanto são de clados filogeneticamente diferentes (Yilmaz et al., 2021). *F. annulatum* é cosmopolita, sua ocorrência é comum em zonas tropicais e temperadas, filogeneticamente sua morfologia é distinta de outras espécies (Domesh et al., 2007).

A fitopatologia tenta compreender o gênero *Fusarium* que é oportunista e possui muita variabilidade, compostos por fungos filamentosos que apresentam inúmeras características ecológicas, fisiológicas e morfológicas. Além de infectar plantas e animais, esses fungos afetam a saúde humana e causa colapsos econômicos (Crous et al., 2021). Por outro lado, há cepas dentro do gênero que não possuem micotoxinas fitopatogênicas e podem ser benéficas para as plantas (SANCHEZ, 2024). Atualmente, estima-se que haja mais de 400 espécies filogeneticamente diferentes distribuída entre os 23 complexos de espécies monofiléticas do gênero *Fusarium*.

Até o momento, acredita-se que mais de 200 espécies de plantas hospedeiras já tenham sido infectada por *F. annulatum*. De acordo com Farr e Rossman, (2021), *F. annulatum* é uma espécie patogênica que ataca várias culturas agrícolas, e a nível global já foi muito estudada, entretanto, de forma equivocada considerando *F. proliferatum* na maioria das ocorrências fitopatogênicas. *F. annulatum* é um patógeno de interesse tanto da fitopatologia quanto do setor econômico, pois também ataca culturas como arroz, sorgo, manga (*Mangifera* L.) e aspargo (Yilmaz et al., 2021). Segundo Khazaal e colaboradores (2019) o fungo também tem efeito patogênico em tamareira (*Phoenix dactylifera*).

Nos bancos de dados utilizados para fazer o levantamento das distribuições de espécies na região Centro- Oeste do Brasil, não houve ocorrência desta espécie em maracujás, tampouco em outros hospedeiros. No o Brasil foram registrados casos no estado de Minas Gerais, com relatos de infecção endofítica na espécie *Cavanillesia arborea* K. Schum. (Imabaré) causada por *F. annulatum* (BAR8F8.1, BARR8F8.2), coletada em solo de agroecossistemas. Já no

nordeste do Brasil, o primeiro registro de URM 8495 foi no Estado de Pernambuco, também encontrado no solo (Alves et al., 2024).

2.6 Melhoramento genético da cultura do maracujazeiro: avanços e desafios

A obtenção de cultivares com padrão de qualidade fitossanitária e a transferência de resistência de espécies silvestres utilizadas como porta-enxerto para o *P. edulis* com os cruzamentos interespecíficos são o caminho para mitigar os impactos que a cultura vem sofrendo com o ataque dos patógenos de solo. Pois a germinação de sementes provenientes desses cruzamentos é baixa e desuniforme (Faleiro et al., 2019).

O estudo sobre o potencial de espécies silvestres vem ganhando notoriedade no meio científico e algumas espécies como *Passiflora suberosa* L. Gaertn, *Passiflora gibertii* N. E. Brown, *Passiflora alata* Curts, *Passiflora setacea* DC e *Passiflora coccínea* Aubl, vem sendo alvo do melhoramento genético por apresentar resistência a algumas doenças (Fischer; Rezende 2008). Estudos recentes feito no estado de Mato Grosso tem apresentados alguns genótipos de espécies silvestre como a (*Passiflora nítida* Kunth e *Passiflora foetida* L.) sendo resistente ao fungo *F. solani*, já a *Passiflora mucronata* Lam, *P. nitida* e *P. foetida* também apresentaram resistência significativa ao patógeno *F. oxysporum*. Sendo indicadas aos programas de melhoramento genético do maracujazeiro como fonte de resistência para cruzamentos (Carvalho et al., 2021).

Explorar as características das passifloras silvestres por meio de pesquisas, representa uma abordagem promissora no âmbito do melhoramento genético. Este enfoque abre caminho para a investigação de recursos vegetais subutilizados, que têm potencial para desempenhar um papel diferenciador na agricultura. Especialmente quando consideramos os desafios atuais relacionados a problemas como doenças do solo, vírus, estresse hídrico entre outras, no contexto do cultivo e consolidação do plantio de maracujazeiro no Brasil (Faleiro, et al., 2019).

O cultivo da cultura enfrenta ascensão e declínio nas regiões produtoras. O maior declínio das plantas ocorre devido ao avanço de pragas e doenças ao longo do ciclo produtivo que também compromete a nutrição e sanidade do pomar (Sabião et al., 2024). Para mitigar esses impactos, o melhoramento genético implementou novas tecnologias como a transferência de resistência para o estudo da cultura, visando a ampliação do cultivo no território nacional e a nível global (Faleiro et al., 2019).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório Didático I e ambiente protegido pertencente a da Universidade do Estado de Mato Grosso “Carlos Alberto Reyes Maldonado” (UNEMAT), *campus* II de Alta Floresta-MT.

3.2 Obtenção do isolado fúngico e isolamento indireto do patógeno

Os isolados de *Fusarium* sp. foram coletados em uma propriedade de agricultores familiares, que cultivam maracujá no município de Carlinda-MT. Foram coletadas aleatoriamente duas plantas com sintomas de murcha e lesão vascular com coloração avermelhada, característica e sintomatologia de Fusariose. Para coleta, o caule da planta foi cortado na base à 20 cm de altura do solo e armazenado em saco preto, posteriormente conduzido para análises em laboratório.

O isolamento do material foi realizado no Laboratório Didático I. Foi feito um corte longitudinal tanto nas raízes quanto no caule da planta hospedeira, então foi constatado a infecção por meio da observação de lesões vasculares de coloração avermelhada, característica de tecido infectado por fitopatógeno do gênero *Fusarium* spp. Com o auxílio do estilete foram retiradas as amostras de raízes diretamente das regiões onde constavam o tecido infectado (Figura 1 C; D).

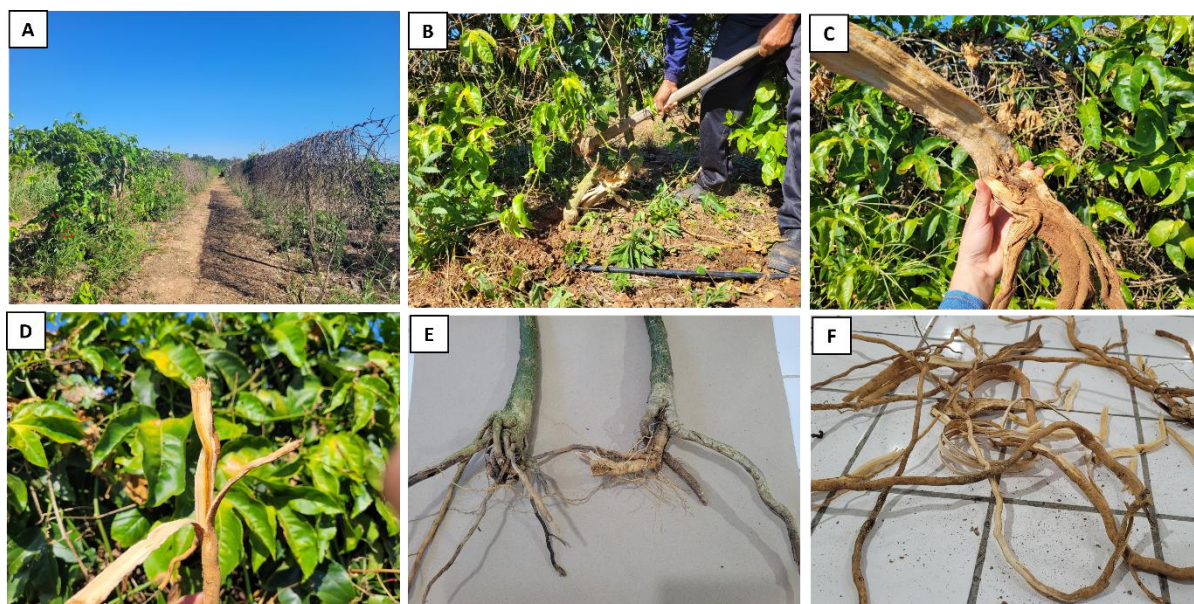


Figura 1: (A) Plantas de *P. edulis* apresentando sintomas de doença; (B) Coleta de material vegetal doente; (C, D) Caule e raiz de *P. edulis* exibindo necrose no sistema vascular; (E) Plantas de *P. edulis* coletadas para análise; (F) Fragmentos das raízes de *P. edulis*. Fonte: PIRES, A. R., 2024.

O método utilizado foi o isolamento indireto proposto na metodologia de Alfenas et al., (2016). Os fragmentos de amostras infectadas de aproximadamente 1,0 cm foram desinfestados superficialmente em álcool 70% e solução de hipoclorito de sódio a 0,5 % (NAClO), por 30 e 60 segundos, seguido de um enxague em água destilada (Figura 2 A).

Posteriormente, o material foi transferido para a placa de Petri onde ficou armazenado em temperatura ambiente por 10 dias (Figura 2 B). Após este período, foi utilizado uma agulha estéril para coletar uma amostra da colônia que cresceu sobre as raízes. O tecido fúngico coletado foi repicado em Placas de Petri contendo o meio de cultivo BDA (Batata-Dextrose-Agar) (Figura 2 C). As placas de Petri foram incubadas a $25^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas para crescimento dos micélios do fungo por 10 dias.

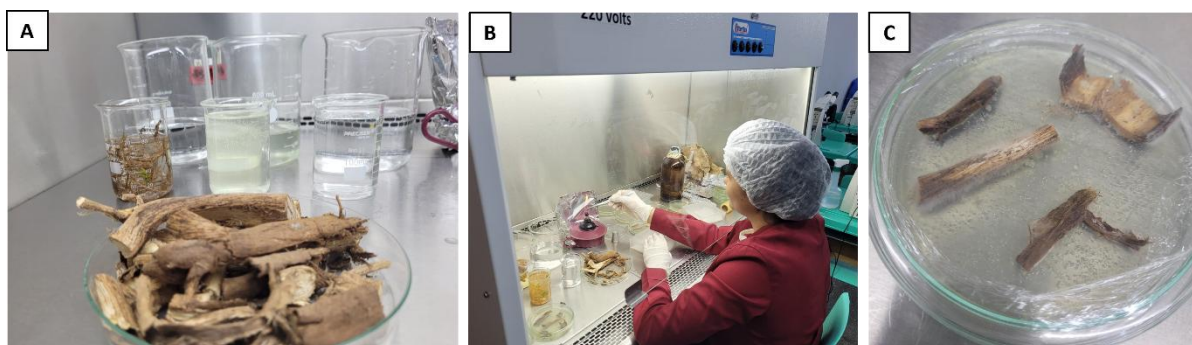


Figura 2: (A; B) Processo de desinfestação realizado em câmara de fluxo laminar das raízes sintomáticas de *P. edulis* em água destilada e hipoclorito de sódio; (C) Fragmentos de raízes de *P. edulis* isolados em meio de cultura de BDA em placa de Petri. Fonte: PIRES, A. R., 2024.

3.3 Identificação direta e caracterização das colônias fúngicas dos isolados

Após o desenvolvimento das colônias fúngicas, a confirmação da presença de *Fusarium* sp foi realizada por meio de análise de lâminas microscópicas e a confirmação da presença de conídios. Além disso, a identificação das colônias foi realizada visualmente baseada na observação da coloração das colônias que haviam se desenvolvido no meio de cultivo. Assim, foram selecionadas as placas de Petri somente com colônias que apresentavam micélios de coloração creme, branca e rósea para identificação microscópica, sendo ao total seis isolados. Após a identificação das colônias contendo o respectivo fungo, elas foram marcadas para serem repicadas até a fase da cultura monospórica (pura). As placas que apresentaram contaminação bacteriana e outras colônias fúngicas foram descartadas.

A análise microscópica foi feita utilizando a técnica de preparo de lâmina direta, a qual fitas adesivas de material transparente, com a parte colante voltada para área de contato foram pressionadas sobre a colônia fúngica para coleta das estruturas. Em seguida, sobre a lâmina de microscopia com o auxílio da pipeta de Pasteur foi adicionada uma gota de corante azul de algodão modificado, posteriormente a fita adesiva com a estrutura fúngica foi então depositada

sobre a lâmina contendo o corante. Após 5 minutos, da aplicação do corante, com o auxílio do papel toalha foi retirado o excesso do corante. Foram feitas três lâminas para cada colônia fúngica, totalizando 18 lâminas. As lâminas foram observadas ao microscópio óptico na objetiva de 40x em microscópio do modelo Zeiss.

Para tanto, a caracterização morfológica dos isolados foi realizada por meio de observação da coloração das colônias e por meio da visualização microscópica das estruturas reprodutivas dos fungos. Como formato do micro e macroconídios, presença de clamidósporos e observação das hifas e as fiálides onde são formados os conídios (Nelson et al., 1983)). Posteriormente, foram foto micrografadas e as estruturas fúngicas foram identificadas com auxílio da literatura, constatando que o fungo era do gênero do *Fusarium* spp.

3.4 Isolamento de culturas puras em meio de cultivo para a produção dos inóculos

As placas de Petri selecionadas na etapa anterior, foram novamente repicadas. O perfurador foi flambado na lamparina para esterilizar, logo em seguida, os discos de micélio de 3mm de diâmetro foram retirados das placas matrizes e depositados no centro de outra placa de Petri contendo o meio de cultura BDA (Figura 3B), as placas tiveram a borda flambada, posteriormente foram vedadas com papel filme transparente e incubadas em BOD a 25° C, fotoperíodo de 12h, por sete dias (Figura 3C). Uma amostra desse material foi enviada para sequenciamento genético e as outras placas permaneceram armazenadas até a inoculação das mudas (Figura 3).

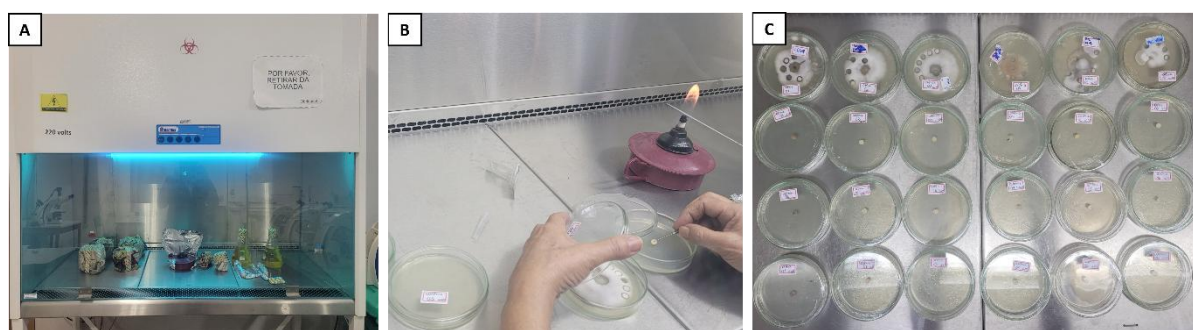


Figura 3: (A) Câmara de fluxo laminar com material autoclavo/ luz UV; (B) processo de repicagem dos discos de micélio; (C) Placa de Petri com discos de micélio das colônias puras repicados. Fonte: PIRES, A. R., 2024.

3.5 Caracterização Molecular

A caracterização molecular foi realizada exclusivamente para o isolado (FOP-05), a extração e o sequenciamento de DNA foram feitos pela empresa GoGenetic localizada em

Curitiba, PR. A identificação molecular do isolado fúngico (FOP-05) foi realizada com base no sequenciamento das regiões ITS (Internal Transcribed Spacer) e TEF (Translation Elogation Factor).

A árvore de distância filogenética entre as sequências de DNA isolado (GO029366-TEF- FOP-05) foi construída com isolados de maior similaridade do banco de dados nr do NCBI (National Center for Biotechnology Information).

3.6 Preservação dos isolados sequenciados

Foi utilizado o método de preservação em água autoclavada (Castellani, 1967). Com o auxílio do perfurador de rolha flambado, foi feito no meio de cultura discos de 3mm de diâmetro, em seguida cinco discos contendo o micélio foi colocado em frascos de vidro de penicilina autoclavado. Logo em seguida, foi adicionada água destilada esterilizada até a metade de sua capacidade. Posteriormente, os frascos foram fechados com algodão hidrofóbico e papel alumínio. O material foi armazenado a 25°C no refrigerador do laboratório da Universidade para a disposição de futuros trabalhos.

3.7 Coleta das sementes, semeadura e produção das mudas

Foram utilizadas três espécies de *passifloras*, sendo uma comercial (*P. edulis*) e duas de origem silvestres (*P. miniata* e *P. cristalina*). As sementes de *P. edulis* foram coletadas de frutos da região e as sementes de *P. miniata* e *P. cristalina* a partir de frutos coletados de plantas nativas de um fragmento de Floresta Amazônica, localizado no município de Alta Floresta-MT. A coleta dos frutos ocorreu entre os meses de outubro a novembro de 2023 (Figura 4).

Os frutos sadios foram encaminhados para o laboratório didático I, onde foi realizado a extração da polpa e a remoção do arilo mucilaginoso por meio da fricção em peneira plástica. Em seguida, as sementes foram secas à sombra, sobre papel toalha, por um período de três dias, em temperatura ambiente. Após o processo de secagem, as sementes foram armazenadas em sacos de papel kraft, mantidas em temperatura ambiente de aproximadamente 28° C até o momento da execução do experimento.

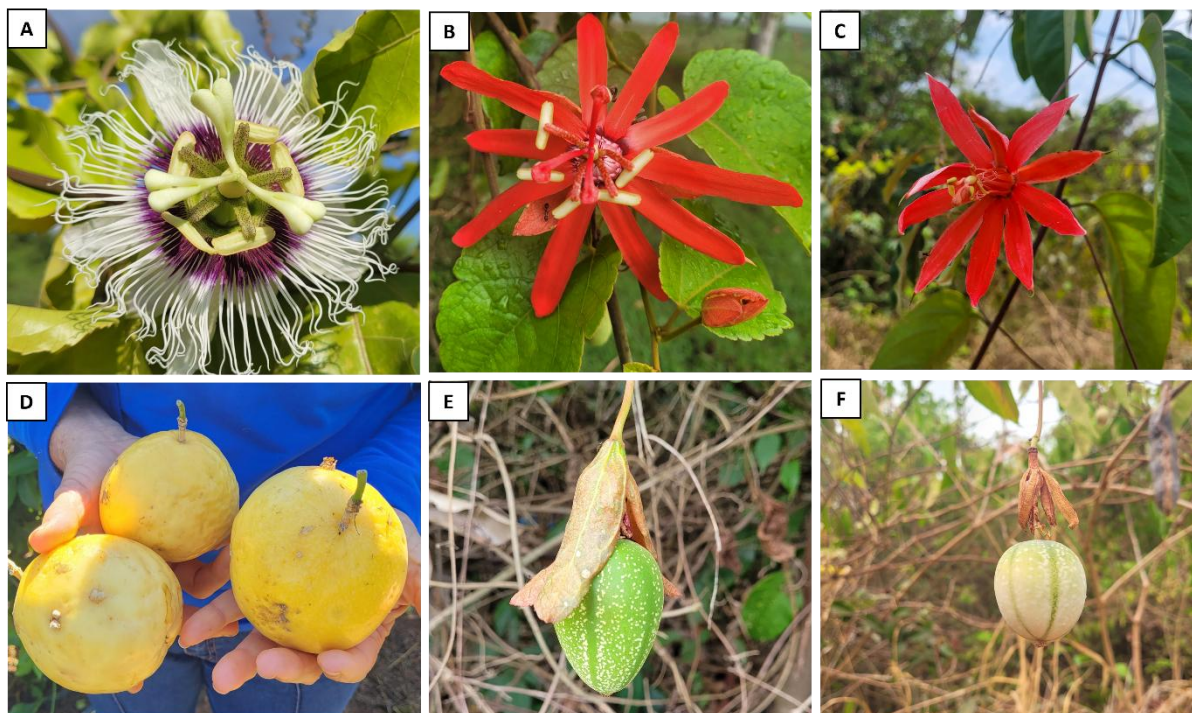


Figura 4: (A; D) Flor e Frutos *P. edulis*; (B; E) Flor e Fruto *P. miniata*; (D; F) Flor e Fruto *P. cristalina*. Fonte: PIRES, A. R., 2024.

Os genótipos de *Passiflora* foram semeados em tubetes com capacidade de 100 cm³ (100 ml) (Figura 5). Os tubetes foram preenchidos 100% com substrato comercial Carolina Soil®, acrescido com adubação de semeadura composta por formulado comercial de liberação lenta Osmocote® 14- 14- 14 de NPK. Em cada tubete, previamente umedecido com água foram semeadas duas sementes do mesmo genótipo. As plântulas ficaram sob condições ambientais de temperatura de 32°C, a irrigação foi realizada por aspersão, duas vezes ao dia, com intervalo de 8 horas. Após 45 dias do plantio as mudas foram inoculadas.

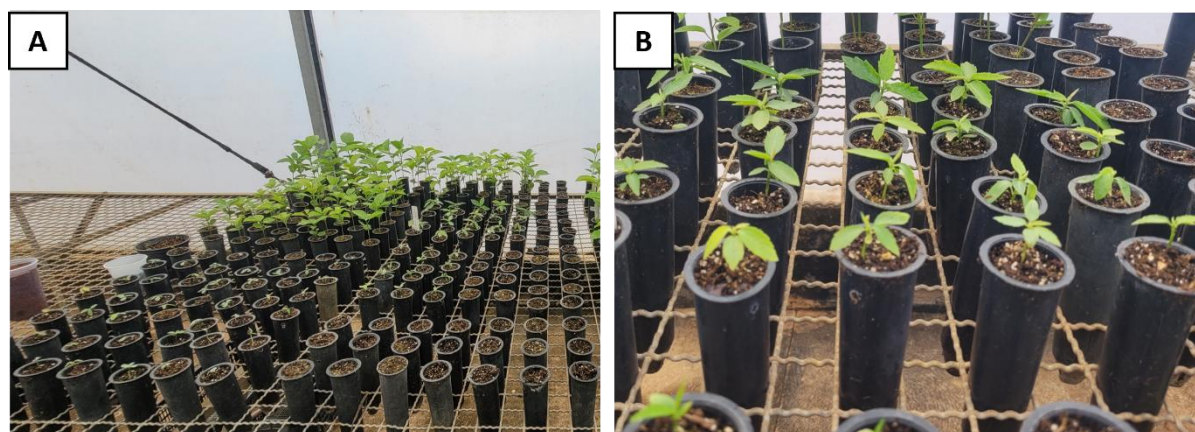


Figura 5: (A) Germinação das espécies de *Passiflora*; (B) Plântulas de *P. miniata*. Fonte: PIRES, A. R., 2024.

3.8 Avaliação da tolerância de espécies de *Passiflora miniata*, *Passiflora cristalina* e *Passiflora edulis* ao *Fusarium* spp pelo método de imersão de raízes em suspensão de conídios

Após o isolamento e identificação do fungo, as mudas de *P. miniata*, *P. cristalina* e *P. edulis* foram retiradas dos tubetes, lavadas em bandeja com água destilada até a remoção dos substratos aderidos as raízes (Figura 6A). Posteriormente, as raízes foram colocadas em um recipiente transparente até o momento da inoculação (Figura 6B). A suspensão de esporos foi preparada minutos antes das inoculações. Para isso, as placas de Petri contendo as colônias puras foram abertas dentro da câmara de fluxo laminar, os conídios foram liberados mediante a adição de 10 mL de água destilada estéril às placas de Petri, seguida da raspagem das colônias do fungo (Figura 6E). A solução resultante foi filtrada por meio de gaze esterilizada em dupla camada. Posteriormente, a concentração de conídios foi ajustada para 1×10^6 conídios mL⁻¹ (Figura 8F), a contabilização dos macroconídeos foi feita com o auxílio da câmara de Neubauer.

Antes do procedimento de inoculação, foi retirada com uma tesoura estéril uma porção nas extremidades das raízes para proporcionar maior exposição do sistema radicular quando imersas na solução (Figura 6D). Logo em seguida, foi adicionada individualmente 10mL de suspensão de conídios para cada planta, sendo o controle somente água destilada autoclavada (Figura 6G). Após a imersão de raízes, os recipientes foram cobertos com saco plástico transparentes. As raízes ficaram imersas na suspensão de esporos por um período de 24 horas em temperatura de 25° C.

Por fim, as mudas foram transplantadas para recipientes de 500mL com substrato autoclavado, novamente foi colocado o saco plástico para que as plantas se aclimassem antes de serem submetidas a condição de estufa (Figura 6I). Posteriormente, os vasos foram transferidos até a estufa, para acompanhamento do processo de sobrevivência das mudas. Uma vez por semana foi aplicada solução nutritiva nas mudas proposta por (Hoagland e Arnon, 1950). O período de avaliação foi acompanhado até aos 90 dias. Durante esse período foram avaliados os sintomas e o tempo de sobrevivência das mudas conforme a metodologia proposta por Silva et al., (2011),

Durante as avaliações as mudas sintomáticas tiveram partes de seu caule e raízes esterilizadas e transferidas para o Meio BDA para confirmar o agente etiológico.

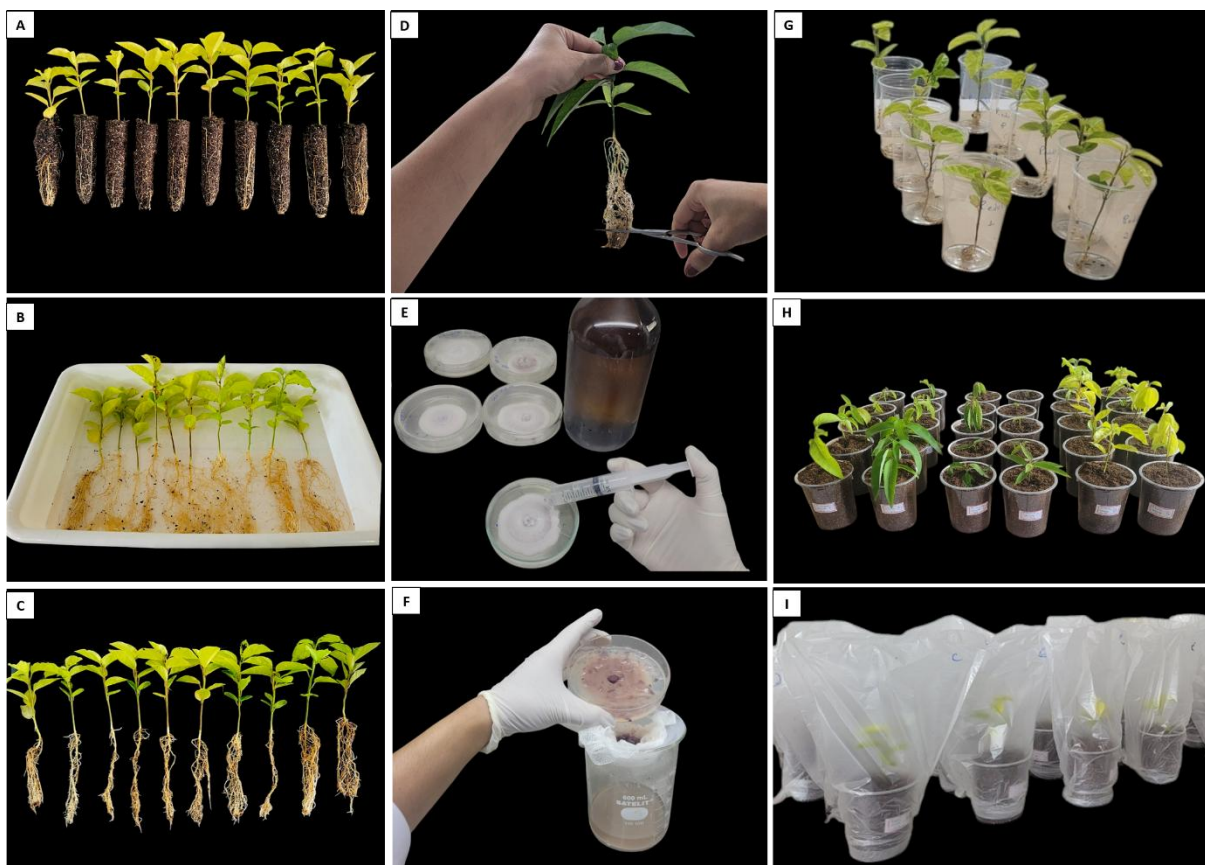


Figura 6: (A) Mudanças de *Passiflora edulis* após 45 dias; (B) Procedimento de lavagem das raízes com água destilada; (C) Raízes limpas, com remoção completa do substrato; (D) Corte parcial das raízes das mudas; (E) Adição de água destilada em placas de Petri; (F) Solução de conídios; (G) Inoculação das mudas; (H) Mudanças transplantadas; (I) Processo de aclimação. Fonte: PIRES, A. R., 2024.

3.9 Avaliação da tolerância de espécies de *Passiflora miniata*, *Passiflora cristalina* e *Passiflora edulis* ao *Fusarium* spp pelo método de discos de micélio

As mudas com 45 dias após a germinação foram retiradas das estufas e levadas para o laboratório, posteriormente com o auxílio do perfurador de rolha foi retirado da borda da colônia discos de 3mm de diâmetro (Figura 7A; B). Foi realizado uma pequena abertura no substrato, rente ao caule. No momento de depositar o disco de micélio foi feito com uma espátula pequenos ferimentos no sistema radicular da planta. Logo em seguida, foi depositado um disco de micélio por tubete nas três espécies de *Passiflora* (Figura 7C). No controle foi depositado apenas disco sem colônia fúngica. As plantas foram levadas novamente para a estufa onde permaneceram por 90 dias após o período de inoculação.



Figura 7: (A) Colônia fúngica de *Fusarium* spp; (B) Extração de discos de micélio utilizando furador de rolha; (C) Inoculação em mudas de *Passiflora edulis*. Fonte: PIRES, A. R., 2024.

3.10 Avaliações pós- inoculação

O potencial de tolerância das plantas inoculadas foi avaliado por meio de duas características: Tempo Médio de Sobrevivência (TMS), referente ao tempo em dias, contanto desde a inoculação até a morte da planta, e Número de Plantas Vivas (NLP), de acordo com (Preisigke *et al.*, 2015). A análise deste estudo foi exclusivamente descritiva, uma vez que se limitou ao registro de ocorrências e à observação visuais da sobrevivência das plantas inoculadas, sem a inclusão de outras variáveis no escopo da investigação.

As plantas foram avaliadas diariamente a partir do segundo dia após a inoculação até os 90 dias, sendo observados os sintomas ocasionados pela infecção quando causada por *Fusarium* spp, como amarelamento, murcha, seca e queda das folhas até a morte da planta.

3.11 Confirmação da Patogenicidade- Ensaio de postulado de Koch

A partir de 90 dias do transplântio, todas plantas que apresentavam sintomas de infecção pelo patógeno inoculado, foram coletadas e levadas ao Laboratório Didático I da (UNEMAT), para realizar o isolamento dos fragmentos do sistema radicular e caulinar a fim de confirmar a incidência de infecção pelo fungo do gênero *Fusarium*. Os fragmentos da borda da lesão foram retirados, desinfestados em álcool 70% e hipoclorito a 0,5%, por 30 e 60 segundos, logo em seguida foram enxaguados em água destilada estéril e transferidas para placa de Petri contendo meio de cultivo BDA, as placas foram incubadas a 25°C por 7 dias.

A presença do patógeno foi confirmada pelo crescimento no meio de cultivo. A identidade do patógeno foi confirmada por meio do postulado de Koch (Amorim e Salgado, 1995).

3.12 Delineamento

O experimento foi conduzido em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) em esquema fatorial duplo 2x3, com os seguintes níveis: Fator 1- Metodologia de inoculação, com dois níveis, sendo Nível 1: Discos de micélio e Nível 2: Imersão de raízes em solução de conídios; Fator 2- Genótipos, com três níveis, composto pelas espécies *P. miniata* (10 genótipos inoculados + 10 controles), *P. cristalina* (10 genótipos inoculados + 10 controles) e *P. edulis* (10 genótipos inoculados + 10 controles). Sendo 10 repetições por genótipos. As plantas utilizadas foram mantidas em casa de vegetação por 45 dias, tempo do surgimento do primeiro trifólio completamente expandido.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Isolamento e caracterização do fungo

O presente estudo, isolou e identificou o fitopatógeno do gênero *Fusarium* em plantas de maracujá-azedo com sintomas de infecção, por meio da avaliação direta das lâminas microscópicas e do procedimento de isolamento (Figura 8). Após a repicagem do material até a fase de cultura pura, observou-se que *Fusarium* spp apresentou excelente desenvolvimento em meio de cultura ágar-batata dextrose (BDA).

A repicagem do material e o posicionamento do disco de micélio no meio de cultura, conforme a metodologia previamente descrita, permitiram observar gradativamente o crescimento micelial das colônias. Em três dias, o diâmetro da colônia atingiu aproximadamente 25 mm, e em sete dias quase ocupou toda a superfície da placa de Petri, sob temperatura de 25°.

Descrição da espécie identificada: *Fusarium* spp;

Morfologia sexuada: não observada;

Morfologia assexuada: Na microscopia realizada por meio da coleta direta dos micélios em meio BDA permitiu a observação de conidióforos, hifas ramificadas e macroconídios com formato reto, semelhante a uma canoa, apresentando de 3 a 5 septos (Figura 8 K; L).

Características da cultura: As colônias cultivadas em meio BDA apresentaram crescimento rápido a partir do terceiro dia, exibindo um micélio de aparência algodonsa e aveludada. Inicialmente, as colônias apresentaram coloração branca com tons rosados, que evoluíram para tonalidades arroxeadas as colônias exibiram micélio de aspecto algodonsa, aveludado com coloração inicial branca com tons rosados, que evoluiu para tonalidades

arroxeadas (Figura 8). Foi observado que quanto mais velha a colônia mais intensa é a sua cor devido aos metabolitos produzidos pelo microrganismo, isso foi observado que a placa aos 90 dias apresentava uma coloração na parte basal bem intensa arroxeada à medida que o fungo atingia a fase de esporulação (Figura 8 G; H).

A utilização da técnica de fita adesiva para a coleta da colônia foi eficiente para obter as estruturas fúngicas e a visualização da mesma em microscópio óptico, com objetiva de 40x. Foram identificados esporos, microconídios, macroconídios, hifas e clamidósporos. Esses resultados reforçam que o isolamento direto e a caracterização morfológica constituem passos fundamentais para a identificação do isolado, quando conduzidas adequadamente e sem contaminação do material. Além disso, o comportamento do fungo no meio de cultivo e a temperatura foi consistente com as descrições esperadas para a espécie.

Embora, o meio de BDA tenha se mostrado eficiente, colônias do gênero *Fusarium* frequentemente exibem padrões morfológicos similares, que também pode variar com meio de cultura, como tonalidades arroxeadas, destacando a importância de combinar métodos clássicos de identificação com análises moleculares para certificar e garantir maior confiabilidade na identificação da cepa isolada. Visto que, a identificação de espécies do gênero *Fusarium* é particularmente desafiadora devido à semelhança morfológica entre elas, como descrito por Vetrova et al. (2024). Em nosso estudo, a identificação do fungo foi dificultada pela similaridade entre espécies do gênero *Fusarium*, como por exemplo, *F. annulatum* com *F. proliferatum*, um membro do complexo de espécies *Fusarium fujikuroi* (FFSC). Essa dificuldade é corroborada por Vetrova (2024), que observou a mesma limitação ao identificar *F. annulatum* em casos de podridão basal de cebolas. A diferença entre essas espécies está na morfologia dos macroconídios, sendo que *F. annulatum* produz macroconídios retos, enquanto *F. proliferatum* apresenta macroconídios ligeiramente curvados. As características morfológicas das estruturas reprodutivas observadas, como os micro e macro conídios fusifórmicos cilíndricos e retos, com 3 a septos, corroboram as descrições de Yilmaz e

colaboradores (2021).

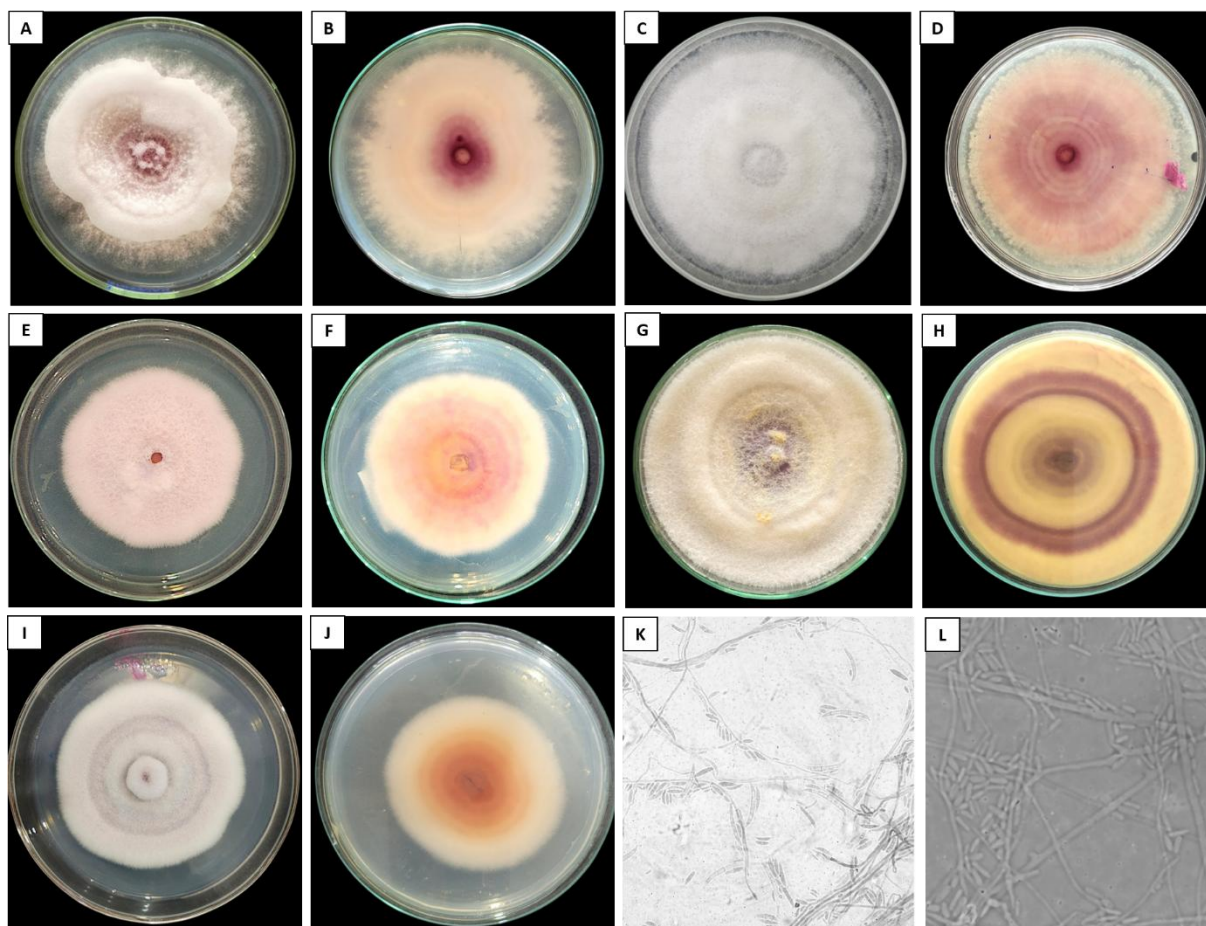


Figura 8: (A; C; E; F) Imagens da parte superior das placas de Petri, mostrando as colônias de *Fusarium annulatum* após sete dias; (G; H) Colônia após 90 dias; (B; D; F; H; J) Imagens da parte inferior das placas de Petri evidenciando as colônias de *F. annulatum*; (K; L) Conídios e Macroconídios de *F. annulatum* observados sob o microscópio objetiva de 40x. Fonte: PIRES, A. R., 2024.

4.2 Identificação molecular do isolado

A espécie da espécie *F. annulatum* no isolado FOP-05 foi confirmada e realizada por meio de análise filogenética de sequências de DNA. Esse isolado foi obtido a partir da coleta e isolamento de raízes de *P. edulis* sintomáticas, cultivadas em uma área com histórico de Fusariose.

As sequências nucleotídicas das regiões ITS (Internal Transcribed Spacer) são amplamente utilizadas para identificação molecular de fungos relacionada a sua variabilidade genética. Neste sentido, a sequência correspondente ao fator de alongação 1- α (EFT) essencial para caracterização. A classificação taxonômica da espécie *Fusarium* foram depositadas no GenBank, estando disponíveis sob os acessos (Go029366- S3671).

A amplificação por PCR das regiões ITS e TEF geraram em sequências de 372/372 bases para ITS e 224/233 bases para TEF de identificação com *F. annulatum* (Figura 9). A

análise comparativa das sequências obtidas revelou uma identidade de 98% com *Fusarium annulatum*. A região sequenciada foi Go029366-S3671. Foram selecionadas as sequências de nucleotídeos cujos níveis de identidade foram apresentados em um percentual de 99%.

>GO029366_ITS_FOP-05

```
GTTGCCTCGGCGGATCAGCCCGCTCCCGGTAAAACGGGACGGCCCGCCAGAGGACCCCTA
AACTCTGTTTCTATATGTAACCTTCTGAGTAAACCATAAATAAATCAAACTTTCAACAA
CGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTGAAT
TGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGC
GGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCCCCGGGTTTGGTGTGGGGATC
GGCGAGCCCTTGCGGCAAGCCGGCCCCGAAATCTAGTGGCGGTCTCGCTGCAGCTTCCAT
TGCCTAGTAGTA
```

>GO029366_EFT_FOP-05

```
GTCGCGTGGAAGAGTAGATCGGCTTTCTTTGCTCCATACATGCAGAGGAAGAAACGCGCCCGCCGCC
AGGGGGGTGATAACATTTGTGGTGAGAGGGGAAACCCCCCGTTATACGCTGGGAGGCTTCTAAAGGG
GCGGTTTTTTTTCTAATATTGTTCCCATAGAGGTTTTTGGGGCCGCCTCTCTCTGGGCCCCACCGG
GGATAATAGCCCTGCCCCATTGAGGATGGGGGGCCCGGGAAGGGGGGCAAAAAGCCCAAAAATTTTC
GGAGGGGAGGGGTAGATTTCTCGGTAGGAAATATTCCCCGGTCCATTGACCAAATTGGGTGTTTTGA
CGGCTTACCCAGTCCCCATTCTCATTGAGCGCATTGTGAGGTGTCAAGCAGCGCCTAACCATTGGAC
AATAGGAAGCCGTTGAGCTCGGTAAGGGTTCCTTCAAGTACGCCTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCC
GAGCGTGAGCGTGGTATCACCATCGATATTGCTCTCTGGAAGTTCGAGACTCCTCGCTACTATGTCAC
CGTCATTGGTATGTGTCGCTCACTTCATCCTATTCTCATACTAATTACTATAAGACGTTACGACGCC
GAC
```

Figura 9: Sequências de bases ITS e TEF de *F. annulatum*. Fonte: GoGenetic, 2024.

Essas sequências, quando alinhadas com dados depositados no Genbank, apresentaram 99% de identidade com cepas do complexo *Fusarium fujikuroi* (FFSC), confirmando a identificação como *F. annulatum* (Yilmaz et al., 2021).

Para elucidar e ilustrar melhor as relações filogenéticas, foi gerada uma árvore de distância filogenética entre a sequência de DNA isolada (Go029366- TEF), mostra que o isolado FOP-05 comparando com as sequências similares do banco de dados nr do NCBI faz parte de um grupo de cepas da seção *Fusarium* (Figura 10 A sequência das cepas relacionadas do complexo *Fusarium fujikuroi*, destacando uma proximidade com *Fusarium hechiense* M. M. A distância entre os nós reflete o grau de parentesco entre as espécies. A Figura 10, ilustra o agrupamento do isolado FOP-05 no complexo do gênero *Fusarium*. Estudos prévios, como os de Geiser et al. (2004), evidenciam que o gene EF- 1 α (fator de alongação 1- alfa) é amplamente empregado na distinção entre as espécies de *Fusarium*, devido ao seu caráter

particular e a consistência em análises taxonômicas. Pinho et al. (2016) reforçam que o uso de uma única região para identificação é eficaz para diagnósticos rápidos, embora limitada em estudos taxonômicos mais complexos.

Até o momento, este é o primeiro estudo que registra a ocorrência de *F. annulatum* associados a raízes de maracujazeiros. Essa descoberta pode sugerir uma nova “cepa” endofítica em maracujazeiros e/ou adaptação do fungo a novos hospedeiros decorrente do seu potencial e expansão do espectro de infecção, apontando a necessidade de monitoramento fitossanitário frente a grande diversidade de cepas de fungos do gênero *Fusarium* presentes no solo.

A identificação molecular de *F. annulatum* no isolado FOP-05 destaca relevância de análises filogenéticas para detecção de patógenos emergentes. Este relato pioneiro amplia o conhecimento sobre a diversidade de patógenos associados aos maracujazeiros, sendo fundamental para estratégias de manejo fitossanitário da cultura. A classificação taxonômica - Reino Fungi; Filo Ascomycota; Classe Sordariomycetes; Ordem Hypocreales; Família Nectriaceae; Gênero *Fusarium*; Espécie *F. annulatum*.

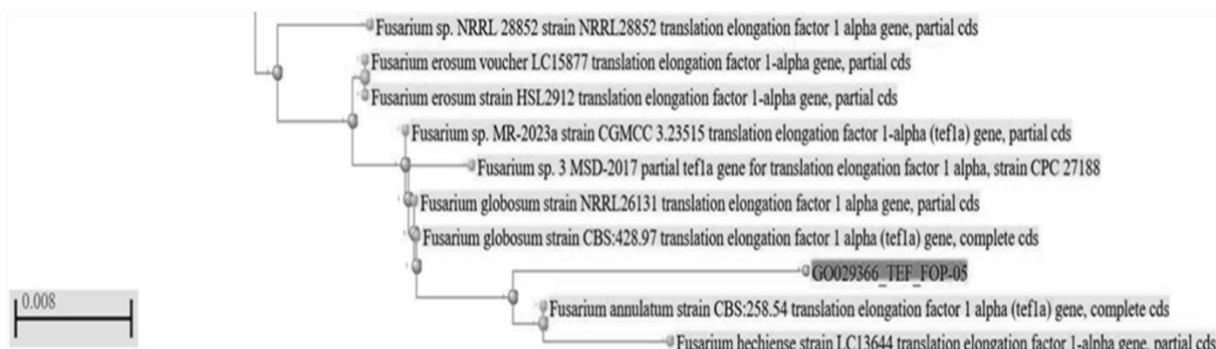


Figura 10. Árvore de distância filogenética entre as sequências de DNA isolado de FOP-05. Fonte: GoGenetic, 2024.

Contudo, esse foi a primeira caracterização de isolado de *F. annulatum* em raízes de maracujazeiro-azedo. No entanto, como a morfologia por si só é insuficiente para distinguir as cepas de *Fusarium* entre si que são distintos quanto a sua virulência e comportamento. Ao passo que, a caracterização molecular de fungos fusarióides se torna essencial devida as características distintas que o fungo pode assumir, como *F. oxysporum* que foi encontrado em formas especiais específicas do hospedeiro, no entanto a gama de hospedeiro e o nível de especificidade permanecem indeterminados para muitas dessas cepas patogênicas (Edel-Hermann; Leconte, 2019).

Diante da diversidade de fungos fusarióides pulverizados pelos mais diferentes habitats, a falta de métodos de identificação para as cepas patogênicas aumenta o risco de introdução dessas cepas em novas paisagens e complica inerentemente o manejo da cultura frente ao potencial de infecção de solo.

4.3 Teste de patogenicidade de *F. annulatum*

Nos resultados do método I, denominado “inoculação com discos de micélio”, não foi observado mortalidade de plantas até 90 (dias após a inoculação) com o isolado de *F. annulatum*. As plantas de *P. edulis* submetidas ao fungo apresentaram sintomas de amarelamento foliar e crescimento lento. Após 60 dias após a inoculação as plantas retomaram seu crescimento de forma normal, quando comparadas com o grupo controle (Figura 11A).

As plantas de *P. cristalina* e *P. miniata* também exibiram sintomas de amarelamento foliar, com crescimento vegetativo dessas espécies comprometido em relação ao controle, que se desenvolveu normalmente. Apesar de estarem sob as mesmas condições experimentais as plantas inoculadas apresentaram um porte menor em altura, ao contrário do que foi observado em *P. edulis* (Figura 11B; C).

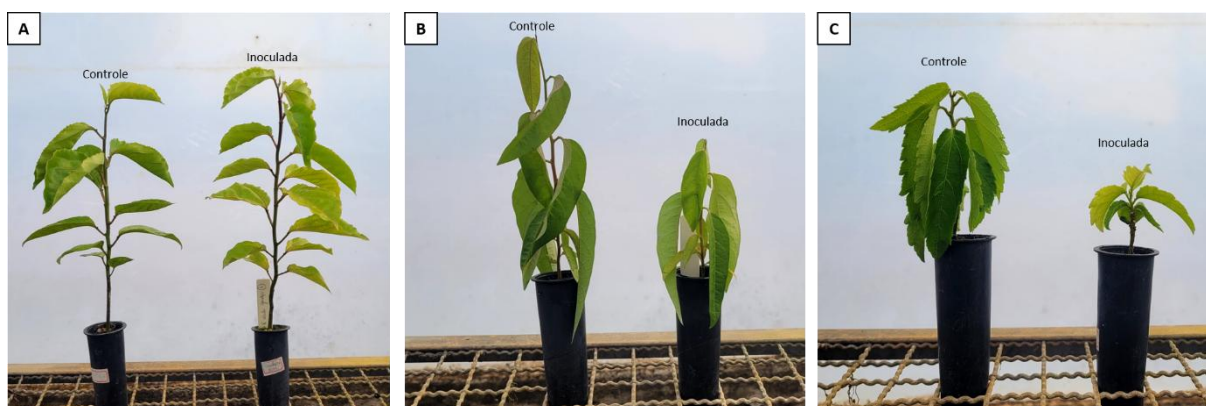


Figura 11: (A) À esquerda, *P. edulis* controle; à direita *P. edulis* inoculada; (B) À esquerda, *P. cristalina* controle; à direita *P. cristalina* inoculada; (C) À esquerda *P. miniata* controle e à direita *P. miniata* inoculada. Fonte: PIRES, A. R., 2024

O fungo pode ser mais severo na fase adulta, como se observa no campo. Contudo, não foram detectados os sintomas característicos da Fusariose, como murcha da parte aérea, infecção do sistema vascular em todas as espécies e nem a morte das plantas. Aos 90 dias, é provável que o fungo ainda não estivesse iniciado o processo de virulência para infectar o sistema

radicular dessas plantas. Além disso, por se tratar de uma espécie diferente, a sintomatologia pode variar, apresentando manifestações distintas das observadas em *P. edulis*. Outro fator a ser considerado é que as plantas avaliadas ainda estavam em fase juvenil, o que pode influenciar na resposta ao patógeno. Ainda assim, o fungo afetou o desenvolvimento de *P. miniata* e *P. cristalina*.

De acordo com Yilmaz et al., (2021) os representantes do gênero *Fusarium* tem a capacidade de permanecer em dormência no solo por longos períodos, por meio de estruturas de resistência denominada clamidósporos, também competem por recursos e participa da absorção dos nutrientes e matéria orgânica disponível no solo.

Foi observado que as plantas continuaram o desenvolvimento sem a manifestação dos sintomas. No entanto, o fungo por ser um oportunista endófito se mantém no tecido da planta competindo por recursos, podendo ou não infectar. Outro fator que também pode ter influenciado o processo é a virulência do isolado é o estímulo a esporulação, pois as espécies do gênero *Fusarium* são estimuladas e/ou induzida por fatores endógenos e ambientais (Ajmal et al., 2023).

O processo de colonização e adaptação do fungo no substrato também pode ter influenciado o processo de infecção do patógeno. Um exemplo disso é a esporulação de *F. oxysporum*, observada nos estudos de Pires e colaboradores (2024), que identificaram a estimulação da produção do fungo pelo aumento da concentração de matéria orgânica presente no substrato (esterco bovino e fibra de coco). A maior esporulação foi registrada quando o esterco bovino foi utilizado, em comparação com a fibra de coco, sendo que a esporulação aumentou em ambientes com pH levemente ácido, neutro ou alcalino.

Nos resultados obtidos no presente estudo, ao longo de 90 dias não foi possível observar a colonização do fungo no substrato comercial autoclavado, pois não tem a quantidade de matéria orgânica comparado com o solo, o que também pode indicar um fator relevante a ser considerado em estudos futuros. Ao passo que para minimizar o risco de contaminação por outros microrganismos, o processo de autoclavagem em altas temperaturas acaba destruindo significativamente a matéria biológica essencial para o desenvolvimento, colonização e esporulação de espécies do gênero *Fusarium* (Gasparotto et al., 2020).

Além disso, o método com discos de micélio é um processo lento, pois depende de diversas variáveis que influenciam a colonização dos vasos condutores de seiva pelo fungo.

Pouco se sabe sobre o processo de colonização e o potencial de agressividade de *F. annulatum*. Ao passo que, esta é a primeira vez que se aplica a metodologia com discos de micélio de *F. annulatum* em plantas de *Passiflora* proveniente de germinação de sementes e cultivadas em tubetes. Deste modo, foi possível constatar que as mudas apresentaram sintomas após o processo de inoculação. Vale ressaltar que o período de avaliação do experimento foi de 90 dias. Novos estudos considerando um tempo maior de exposição ao fungo são imperativos, pois o que se observa a campo é a morte das plantas já em estágio adulto.

Em relação ao método II, denominado de imersão em suspensão de conídios (1×10^6 conídios. mL^{-1}) de *F. annulatum* por 24h, verificou-se que o isolado foi capaz de produzir sintomas de amarelamento, murcha e morte das plantas 90 dias após a inoculação. Ao analisar a sintomatologia e a sobrevivência das mudas após a inoculação artificial, utilizando o método de imersão das raízes em solução de conídios, observou-se que, sete dias após a imersão das raízes na solução de conídio de *F. annulatum*, seguido do transplante para o substrato autoclavado, as mudas apresentaram sintomas iniciais como amarelamento e desfolha, com maior intensidade em *P. miniata*.

Esse comportamento pode ser atribuído ao estresse provocado pelo corte nas raízes, o qual intensifica o contato direto do sistema radicular da planta com a solução de conídios, e consequentemente, a maior exposição tecidual das raízes juvenis. As plantas de *P. edulis* e *P. cristalina* demonstraram ser tolerantes a essa metodologia, isso se deve pelo fato do caule ser mais lenhoso, ao contrário de *P. miniata*, que possui caule mais suculento. Conforme descrito na metodologia aplicada neste estudo, tal processo possivelmente comprometeu a absorção de água pela planta, até que a muda se adaptasse ao novo ambiente após o transplante.

Em *P. miniata*, a rápida perda de água provocou a murcha instantânea durante o procedimento de inoculação, sugerindo que essa metodologia de efetuar o corte radicular parcial/ total não seja tão indicada para a espécie em questão, devido as suas particularidades fisiológicas e morfológicas do caule suculento que necessita de estar úmido. Por outro lado, a *P. cristalina* apresenta maior rusticidade por apresentar um caule mais lenhoso, aspecto fibroso que não perde água com facilidade, assim como *P. edulis*. Além disso, a aplicação da metodologia de inoculação foi eficiente para avaliar três espécies. Porém, como mencionado a *P. miniata* requer um cuidado um pouco mais minucioso durante o procedimento. Desde o corte do sistema radicular quanto na acomodação da muda na hora do transplante para outro recipiente e consequentemente no processo de aclimação. As mudas com 45 dias de *P. edulis*

eram mais desenvolvidas quando comparadas com *P. miniata* e *P. cristalina* que apresenta um desenvolvimento mais lento. Embora apresentem padrões morfológicos distintos relacionados à altura, circunferência do caule e tamanho das folhas, o sistema radicular das três é relativamente bem desenvolvido, facilitando o processo de inoculação por meio da imersão do sistema radicular.

O experimento foi acompanhado durante 90 dias após a inoculação, no entanto durante



Figura 12: Setas indicam as necroses- Caules de *Passiflora* provenientes de germinação das sementes, 90 dias após o processo de inoculação na suspensão de conídios. (A) Caule de *P. miniata* com sinais de infecção provocada pelo fungo *F. annulatum*; (B) Início de necrose nos vasos condutores de seiva em *P. miniata*; (C) Caule de *P. cristalina* sem sinais de infecção; (D) Caule saudável de *P. edulis*. Fonte: PIRES, A. R., 2024

esse período foi observado sintomatologia proveniente de infecção patogênica como necrose somente no caule de *P. miniata*. A planta apresentou lesões verticais por toda a extensão do caule, o material analisado apresentou um aspecto avermelhado e apresentava odor de necrose tecidual (Figura 12 A; B). Além disso, nas espécies *P. cristalina* e *P. edulis*, não foram observados sintomas de infecção no tecido vascular após 90 dias de análise, os caules analisados tinham aspecto saudável (Figura 12 C; D). Diferentemente de *P. miniata*, cujos caules apresentaram sinais de necrose.

As espécies de *P. edulis* e *P. cristalina* não apresentaram sintomas de infecção no sistema vascular, entretanto, apresentaram sintomas de amarelamento e desfolha.

Esses resultados são intrigantes, especialmente que o isolado utilizado foi obtido de uma área com plantas doentes plantadas em solo com histórico de Fusariose. Por outro lado, foi observado que o FOP-05 isolado de *F. annulatum* de alguma forma limitou o crescimento das mudas inoculadas, visto que todas estavam submetidas a mesma condição ambiental, no entanto o crescimento lento e desenvolvimento da parte aérea das mudas inoculadas não se desenvolveu muito quando comparada com o controle que não foi submetido a inoculação (Figura 13).

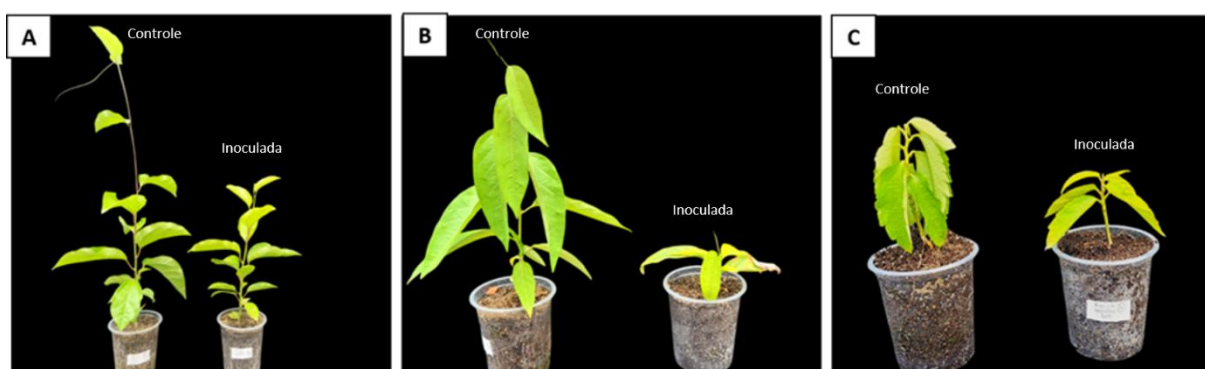


Figura13: (A) À esquerda, *P. edulis* controle; à direita *P. edulis* inoculada; (B) À esquerda, *P. cristalina* controle; à direita *P. cristalina* inoculada; (C) À esquerda *P. miniata* controle e à direita *P. miniata* inoculada. Fonte: PIRES, A. R., 2024.

Apesar do gênero *Fusarium* ser muito estudado por se tratar de fungos fitopatogênicos que causam prejuízos imensuráveis em diversas culturas do setor agrícola, pouco se sabe sobre o comportamento de *F. annulatum*. Alguns estudos recentes evidenciaram que ele é uma espécie com virulência e patogenicidade em diversos hospedeiros como plantas e animais (Yilmaz et al., 2021).. É interessante ressaltar que *Fusarium* é um gênero cosmopolita e pode ser encontrado em diversos ambientes e hospedeiros, visto que dentro do complexo FFSC há registros de fungos também associados a insetos (Donnell et al., 2012).

A nível mundial, de acordo com dados recentes, cepas agressivas de *F. annulatum* causou sintomas de podridão basal em cebolas na Rússia (Vetrova et al., 2024). Espécies de *F. annulatum* foi encontrado associados à podridão do caule e raízes da batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) (Mello et al., 2024). Na China, cepas dessa espécie foi identificada em podridão do rizoma de açafrão (Mirghasempour et al., 2022). Observado a podridão de melão Cantaloupe na Espanha (Parra et al., 2022).

Nos Estados Unidos, as cepas de *F. annulatum* foram responsáveis pela murcha do sistema vascular em videiras (Bustamante et al., 2022) e podridão das raízes de coníferas em viveiros florestais (Dobbs et al., 2023). Como observado, os registros de ocorrência nos últimos cinco anos são em diversas culturas agrícolas de interesse econômico, entretanto, há muita lacuna sobre a biologia e fitogeografia dessa espécie. Com os resultados deste trabalho podemos constatar que o fungo também possui preferência por espécies lenhosa, como as lianas. A análise realizada após os cortes longitudinais nos caules das plantas 90 dias após a inoculação evidencia o início de uma infecção provocada por *F. annulatum*.

A avaliação da severidade da doença em mudas de maracujás é um processo que vem sendo estudado há muitas décadas, no entanto, à medida que as condições climáticas mudam e

novas cepas são descobertas e novas cultivares são lançadas o processo de busca por genótipos resistentes a doenças ainda se mantém em fase de desenvolvimento. Neste caso, o primeiro registro de ocorrência de *F. annulatum* pode partir de um princípio de que outras espécies de *Fusarium* podem estar correlacionadas com *F. annulatum* a doenças de maracujazeiros no Brasil.

Ambas as metodologias testadas foram capazes de detectar, em um curto período de tempo, que o fungo possui resiliência para sobreviver em condições do substrato autoclavado e com pouco recursos disponíveis iniciou o processo de infecção. Diante disso, vale ressaltar que a resposta do isolado também está associada à variabilidade genética da espécie que determina o grau de patogenicidade do fungo. Esse é um fator a ser considerado ao caracterizar o genótipo de maracujazeiro como material resistente a um determinado patógeno (Silva et al., 2013).

Resultados similares foram observados nos trabalhos de Melo et al. (2019), a severidade da doença diferiu entre as espécies, as plantas inoculadas com *F. oxysporum* apresentaram sintomas como amarelamento e desfolhas, mas conseguiram sobreviver até o final do ciclo de 90 (DAI). O que reflete o que vemos no campo, o processo é gradual a planta só morre depois de um certo tempo, ou seja, até que a colonização do fungo no interior da planta aumente e suas defesas naturais não consigam mais conter a patogenicidade do fungo. Quando isso acontece, a planta eventualmente morre. Durante a interação entre planta e patógeno, ocorre a ativação de uma complexa rede de sinalização que regula a expressão gênica, resultando na produção de diversas moléculas de defesa da planta (Dos Santos et al., 2023).

Conforme relatado por Dos Santos et al. (2023), as plantas sintetizam proteínas conhecidas como PRs (pathogenesis- related proteins) em resposta a infecções patogênicas. Além disso essas proteínas, possuem atividades enzimáticas diversificadas, incluem β glucanase, quitinase, peroxidase e ribonuclease. Em condições normais da planta, algumas proteínas PR (Proteínas antimicrobianas) estão presentes nos tecidos vegetais saudáveis, só que em níveis mais baixos. Ao passo que diante da presença de um patógeno, a expressão dessas proteínas é induzida, atua na defesa da planta afim de contribuir para mitigar os danos e consequentemente a mortalidade pelos fitopatógenos.

Durante a resposta das plantas, as proteínas PR (*pathogenesis-related proteins*) podem atuar por rotas diretas e indiretas, com o objetivo de inibir o crescimento de fitopatógenos e/ou a germinação de seus esporos. Além disso, essas proteínas apresentam funções antimicrobianas, incluindo a inibição de hidrolases que degradam polissacarídeos presentes na parede celular dos patógenos, bem como de proteinases, entre outras atividades essenciais para a defesa vegetal (Zribi et al., 2021).

A busca por genótipos com potencial de tolerância a patógenos do solo depende de diversos fatores que influenciam o grau de severidade da doença. Entre esses fatores estão a quantidade de inóculo, a influência dos elementos ambientais que favorecem o desenvolvimento do patógeno, além do acesso ao hospedeiro por meio de lesões ou ferimentos mecânicos. Como observado nos estudos de (Silva e Clark et al., 2013), mesmo em condições ambientais favoráveis, são necessárias várias semanas a meses para que a doença se desenvolva e penetre nos tecidos radiculares até no aparecimento dos sintomas no hospedeiro.

Esses resultados sugerem que o patógeno de fato precisa de mais tempo em contato com o hospedeiro para que as lesões mais extensas se formem, potencialmente levando à morte das espécies testadas. O acompanhamento das mudas à campo após os 90 dias após a inoculação é uma estratégia para continuar a entender o processo de infecção e o potencial de tolerância de *P. miniata*, *P. cristalina* e *P. edulis* inoculadas com *F. annulatum*. Visto que, a colonização endofítica do tecido vegetal vivo por *F. annulatum* em maracujás é um fenômeno que precisa ser estudado e carece de informações substanciais, mas extremamente importantes para se entender relação hospedeiro e patógeno, além de ser fundamental para implementar estratégias de controle mais eficazes e ampliar o conhecimento sobre o potencial de tolerância dessas espécies silvestres.

A capacidade do fungo *F. annulatum* em colonizar o substrato sem causar sintomas severos sugere que as condições ambientais ou as características do isolado testado podem ter limitado sua virulência. Além do mais, o amarelamento e o crescimento reduzido inicial podem estar associados ao estresse causado pela inoculação e adaptação as plantas ao fungo enquanto a estabilização subsequente indica uma possível tolerância ao patógeno ou a superação do estresse inicial pelas espécies testadas.

4.4 Validação da Patogenicidade (Postulado de Koch)

Ao término do estudo, amostras do caule e das raízes de plantas sintomáticas foram submetidas a um processo de assepsia e transferidas para meio de cultura BDA. O procedimento de reisolamento do material vegetal infectado possibilitou, após cinco dias de incubação, a observação do desenvolvimento de colônias.

A análise morfológica confirmou que o fungo isolado das partes vegetais utilizadas no experimento correspondia a *F. annulatum*, com a presença de macroconídios, microconídios e clamidósporos. Esses resultados corroboraram a presença do fungo nas espécies testadas,

validando a identificação do agente etiológico e atendendo aos critérios estabelecidos pelo Postulado de Koch.

5 . CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em relação ao isolamento de colônias fúngicas, as características morfológicas são complicadas por semelhanças na coloração das colônias e estruturas reprodutivas, semelhantes a outras espécies do complexo *Fusarium*, porém, as características observadas são consistentes com os padrões descritos na literatura para espécies do gênero *Fusarium*. Embora existam poucos estudos envolvendo o isolamento de *F. annulatum* em árvores frutíferas, e em particular nenhum isolamento em maracujás, as comparações com culturas hospedeiras semelhantes foram decisivas para a validação dos resultados e para a confirmação por análises moleculares realizadas em laboratório.

A metodologia de raízes lavadas com cortes radiculares, aplicada nas espécies para expor o sistema radicular a um maior contato com a solução de conídios, não foi especialmente adequado para a *P. miniata*, que mostrou limitações devido à alta suculência do caule dessa espécie, o que resulta em perda significativa de água. Essa característica, embora ideal para processos de enxertia, compromete a sobrevivência inicial das mudas nos sete dias após a inoculação e o transplante para substrato. Por outro lado, em *P. edulis* e *P. cristalina*, os cortes radiculares não apresentaram impacto negativo permitindo maior adaptação após o transplante.

O uso de discos de micélio com ferimento radicular revelou-se promissor, mas exige maior compreensão sobre o comportamento de *F. annulatum*. As variáveis envolvidas na patogenicidade, desenvolvimento e ataque ao sistema radicular ainda precisam ser analisadas em estudos de longo prazo. Além disso, a aplicação direta dos discos ao caule das mudas foi limitada pela fragilidade da circunferência do caule aos 45 dias, destacando a necessidade de ajustes metodológicos em estudos futuros.

Sugere-se a realização de experimentos em diferentes épocas do ano pois pode ser essencial para confirmar o grau de tolerância das espécies estudadas. Sob as condições deste trabalho, os genótipos de *P. edulis*, *P. miniata* e *P. cristalina* demonstraram “tolerância” a duas formas de inoculação do patógeno até os 90 dias de avaliação e não foi evidenciado o grau de patogenicidade do isolado FOP-05, isso pode ter sido influenciado por várias variáveis como os fatores bióticos e abióticos que precisam ser levados em consideração.

Esses resultados reforçam a importância de explorar recursos genéticos e investigar a diversidade e o potencial de tolerância desses genótipos em programas de melhoramento genético do maracujazeiro, contribuindo para o entendimento da diversidade e da fitogeografia de *F. annulatum* em culturas frutíferas. Além disso, ressalva e contribui para conscientização da importância do monitoramento fitossanitário e os tratos culturais adequados direcionados à cultura do maracujazeiro, bem como o entendimento da biologia e patogenicidade desse fungo, ainda pouco estudado.

6 . CONCLUSÃO

No presente estudo, identificou pela primeira vez a presença da espécie *F. annulatum* associado às raízes de maracujazeiros com sintomas de Fusariose. Além disso constatou que o fungo se manteve em algumas espécies após 90 dias da inoculação. Ao passo que, as plantas permaneceram vivas e sem apresentar sintomas severos, o que pode sugerir uma possível tolerância. No entanto, é fundamental prolongar o período de avaliação para futuros trabalhos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROFIT- Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> Acesso em 28 ago. 2024).

AJMAL, M.; HUSSAIN, A.; ALI, A.; CHEN, H.; LIN, H. Strategies for controlling the sporulation in *Fusarium* spp. **Journal Fungi**. v. 9, p. 10.

ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em fitopatologia**, UFV, Imprensa Universitária, v. 2º ed, Viçosa, MG, 2016.

ALVES, A. L.; SILVA, T. V.; DE MATOS, J. L. S.; SANTOS, A. C. D.; MELO, R. F. R.; TIAGO, P. V. Fusarioid fungi in soils of agroecological polycultures and tropical dry forest in rural Triunfo, Brazil: Insights into sustainable agricultural management. **Acta Botanica Brasilica**, v. 38, p.165, Recife, PE, 2024.

AMORIM, L.; SALGADO, C. L.; BERGAMIM FILHO, K. H. Diagnose. Manual de fitopatologia. **Agronômica Ceres**, v. 3, p, 224- 232, São Paulo, 1995.

BERNACCI, L. C.; MEZZONATO, A. C.; MILWARD, M. A.; CERVI, A.C (*in memoriam*) *Passiflora* in **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB12506>> Acesso em 09 jan. 2025.

BUBICI, G.; KAUSHAL, M.; PRIGIGALLO, M. L.; CABANÁS, C. G. L.; MERCADO-BLANCO, J. Biological control agentes Against *Fusarium* wilt of banana. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 616, Bari, Italy, 2019.

BUSTAMANTE, M. I.; ELFAR, K.; SMITH, R.; BETTIGA, L.; TIAN, G. A. T.; ESKALEN, A. Fisrt reporto f *Fusarum annulatum* associated with Young vine decline in California. **Plant disease**, v. 10, p. 106, California, 2022.

CARLOSAMA, A. R.; FALEIRO, F. G.; MORERA, M. P.; COSTA, A. M. Pasifloras espécies cultivadas em el mundi. **Prolmpress Cepass**, 1º ed, p. 249, Brasília, DF, 2020.

CARMEN, S.; *Fusarium* as a promising fungal genus with potential application in bioremediation for pollutants mitigation: A review. **Elsevier**, v. 77, p. 476, México, 2024.

CARVALHO, A. M. B.; CARVALHO, A. M. Nota preliminar sobre a ocorrência de *Fusarium* sp. em plantas de maracujá, no Estado de São Paulo. **Ciência e Cultura**, v. 20, p. 265-266, São Paulo, 1968.

CARVALHO, J. A. D.; DE JESUS, J. G.; ARAUJO, K. L.; SERAFIM, M. E.; GILIO, T. A. S.; NEVES, L. G. Passion Fruit (*Passiflora* spp.) species as sources of resistance to soil phytopathogens *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *Passiflorae* complex. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 43, n. 1, p. 427, Jaboticabal, 2021.

CARVALHO, S. L. C.; STENZEL, N. M. C.; AULER, P. A. M. Maracujá- amarelo: Recomendações técnicas para o cultivo no Paraná. **IAPAR**, v. 83, p. 54, Londrina, 2015.

CASTELLANI, A. A Maintenance and cultivation of the common pathogenic fungi of man in sterile distilled water: further researches. **Journal of Tropical Medicine & Hygiene**, Mclean, v. 70, p. 181-184, USA, 1967.

CERQUEIRA- SILVA, C. B. M.; FALEIRO, F. G.; DE JESUS, O. N.; DOS SANTOS, E. S. L.; DE SOUZA, A. P. The genetic diversity, conservation, and use of Passion Fruit (*Passiflora* spp.) Genetic Diversity Erosion in Plants. **Springer**, v. 8, cap. 5, p. 215- 231, São Paulo, 2016.

CHANG, K. F.; HWANG, S. F.; CONNER, R. L.; AHMED, H. U.; ZHOU, Q.; TURNBULL, G. D.; STRELKOV, S. E.; MCLAREN.; GOSSEN, B. D. First report of *Fusarium proliferatum* causing root in soybean (*Glycine max* L.) in Canadá. v. 3, p. 102, Canadá, 2015.

CROUS, P. W.; LOMBARDO, L.; SANDOVAL- DENIS, M.; SEIFERT, *Fusarium*: More than a node or a foot- shaped basal cell. **Studies in Mycology**, v. 98, p. 100116, Netherlands, 2021.

DO ESPÍRITO SANTO, A. P.; PEREGO, P.; CONVERTI, A.; OLIVEIRA, M. N. Influence of milk type and addition of passion fruit peel powder on fermentation kinetics, texture profile and bacterial viability in probiotic yoghurts, **Elsevier**, v. 47, n. 2, p. 393–399, jul. São Paulo, 2012.

DOBBS, J. T.; KIM, M. S.; REYNOLDS, G. J.; WILHELMI, N.; DUMROESE, R. K.; KLOPFENSTEIN, N. B.; FRAEDDRICH, S. W.; CRAM, M. M.; BRONSON, J.; STEWART, J. E. Fusarioid Community diversity associated with conifer seedlings in forest nurseries across the contiguous USA. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, n. USA, 2023.

DOMESCH, K. K.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. Compendium of soil fungi, taxonomically revised. **European Journal of Soil Science**, v. 59, 2 ed, p. 672, Eching, Canadá, 2007.

DONNELL, K. O.; HUMBER, R. A. H.; GEISER, D. M.; KANG, S.; PARK, B.; ROBERT, V. A. R. G. R.; CROUS, P. W.; JOHNSTON, P. R.; AOKI, T.; ROONEY, A. P.; REHNER, S. A. Phylogenetic diversity of insecticolous fusaria inferred from multilocus DNA sequence data and their molecular identification via *Fusarium*-id and *Fusarium*. **Mycologia**, v. 104, n. 2, p. 427-445, Illinois, 2012.

DOS SANTOS, C.; FRANCO, O. Pathogenesis-Related proteins (PRs) with enzyme activity activating plant defense responses. **Plants**, v. 12, n. 11, p. 2226, Brasília, 2023.

Edel-Hermann, V.; Lecomte, C. Current status of *Fusarium oxysporum* formae speciales and races. **Phytopathology**, v. 109, n. 4, p. 512-530, França, 2019.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; JUNGHANS, T. G.; DE JESUS, O. N.; MIRANDA, D.; OTONI, W. C. **Revista de Fruticultura**, v. 41, n. 2, p. 155, Jaboticabal, 2019.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. Maracujá: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Planaltina: **Embrapa Cerrados**, Brasília, DF, 2016.

FALEIRO, F. G.; ROCHA, F. E. C.; GONTIJO, G. M.; ROCHA, L. C. T. R. Maracujá: prospecção de demandas para pesquisa, extensão rural e políticas públicas baseadas na adoção e no impacto de tecnologias. **Expedição Safra Brasília – Maracujá**, v. 2, p. 275, Brasília, 2019.

FARR, D. F.; ROSSMAN, A. Y.; Fungal Databases, US National Fungus Collection, ARS, USDA, 2021. Disponível em: < <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/> > Acesso em 15 nov. 2024.

FISCHER, I. H.; REZENDE, J. A. M.; Diseases of *Passion* flower (*Passiflora* spp.). **Pest technology**, v. 2, n. 1, p. 1-19, São Paulo, 2008.

FUSARIOID-ID database - Food, Fibre & Health. Disponível em: <https://www.fusarium.org/>. Acesso em: 02 jan. 2025.

GASPAROTTO, L.; DITA, M.; ALEXANDRE, J. R.; SCHURT, D. A.; LEITE, R. S. V. *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense raça 4 tropical. Perigo para a bananicultura nacional. **Embrapa**, v.149, p. 17, Manaus, AM, 2020.

GEISER, D. M.; JIMENEZ- GASCO, M. D. M.; KANG, S.; MAKALOWSKA, I. A.; VEERARAGHAVAN, N.; WARD, T. J.; ZHANG, N.; KULDAU, G. A.; O DONNELL, K. O. DNA sequence database for identifying *Fusarium*. *European Journal of plant*, v. 110, p. 473-479, Netherlands, 2004.

GONÇALVES, Z. S.; LIMA, L. K. S.; SOARES, T. L.; ABREU, E. F. M.; BARBOSA, C. J.; CERQUEIRA- SILVA, C. B. M.; JESUS, O. N.; OLIVEIRA, E. J. Identification of *Passiflora* spp. genotypes resistant to Cowpea aphid- borne mosaic vírus and leaf anatomical response under controlled conditions. **Scientia Horticulturae**, v. 231, p. 166-178, Bahia, Brasil, 2018.

GORDON, T. R. *Fusarium oxysporum* na the *Fusarium wilt syndrome*. **The annual review of Phytopathol**, v. p. 23-29, California, 2017.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water culture method for growing plants without soil. **Agricultural Experiment Station**, v. 347, p.32, Berkley, California, 1938.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Maracujá: área plantada e quantidade produzida no ano de 2023. Disponível: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>> Acesso em 28 ago. 2024.

JOY, P. P.; SHERIN, C. G. Diseases of Passion Fruit (*Passiflora edulis*) and their Management. In: PANDEY, A. K.; MALL, P. (ed). **Insect pests managements of fruit crops**. New Delhi: Biotech Books, p. 453-470, 2016.

KHAZAAL, F. A. K.; AMEEN, M. K. M.; ALI, A. H. Pathogenic Fungi associated with sudden decline syndrome (wilting disease) of date palm tree (*Phoenix dactylifera* L.). **Journal of Science**, v. 37, n. 3, p. 376- 397, Barasrah, Iraq, 2019.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A. & CAMARGO, L. E. A. (Ed.). Manual de fitopatologia. Doenças de plantas cultivadas, **Agronômica Ceres Ltda**, v. 2, 4^o ed, São Paulo, 2005.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. *Fusarium* laboratory workshops- A recente history. **Mycotoxin Research**, v. 22, n^o. 2, p. 73- 74, New Orleans, USA, 2006.

LIBERATO, J. R.; ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; MONTEIRO, A. J. A.; COSTA, H. Controle de doenças causadas por fungos, bactérias e nematóides em maracujazeiro. In: **Controle de doenças de plantas fruteiras**, p. 699-776, Minas Gerais, 2002.

LIM, T. K. *Passiflora miniata*. In: Edible medicinal and non- medicinal plants. **Springer**, v. 4, p. 178- 180, Canberra, Austrália, 2012.

LIMA, L. K. S.; JESUS, O. N. DE SOARES, T. L.; OLIVEIRA, S. A. S.; DE HADADD, F.; GIRARDI, E. A. Water deficit increases the susceptibility of yellow passion fruit seedlings to *Fusarium* wilt in controlled conditions, **Scientia Horticulturae**, v. 243, p. 609-621, Cruz das Almas, BA, 2019.

LOMBARD, L.; SANDOVAL- DENIS, M.; LAMPRECHT, S. C.; CROUS, P. W. Epitypification of *Fusarium oxysporum*- Clearing the taxonomic chaos. **Personia**, v. 43, p. 1- 47, 2019.

McKnight, T. A wilt disease of the passion vines (*Passiflora edulis*) caused by a species of *Fusarium*. **Journal of Agricultural Science**. v. 8, p. 1- 4, Queensland, Austrália, 1951.

MELETTI, L. M. M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 33, p. 83- 91, Jaboticabal- SP, 2011.

MELO, N. J. A.; NEGREIROS, A. M. P.; MEDEIROS, H. L. S.; SALES JUNIOR, R.

Evaluation of *Fusarium* wilt disease in passion fruit species inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*. **Journal of Phytopathology**, v. 168, n. 2, p. 81-87, Mossoró- RN, Brasil, 2019.

MELLO, J. F. DOS SANTOS, A. C. DA SILVA.; BRITO, A. C. DE QUEIROZ.; NETO, J. V. DA SILVA.; SOUZA, A. DE ALMEIDA.; COSTA, A. F. DA COSTA.; GOMES, A. A. M.; SOUZA- MOTTA, C. M.; LOPES, U. P.; MACHADO, A. R. Species diversity of fusarioid genera associated with sweet potato in Brasil, including the description of a new species. *Plant Pathology*, v. 73, n. 4, p. 975-990, Recife, Pernambuco, 2024.

MIRGHASEMPOUR, A. S.; STUDHOLME, D. J.; CHEN, W.; ZHU, W.; MAO. B. Molecular na Pathogenic Characterization of *Fusarium* Species Associated with Corm Rot Disease in Saffron from China. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 5, p 515, China, 2022.

NELSON, P. E.; DIGNANI, M. C.; ANAISSIE, E. J. Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. **Pub Med**, V. 7, p. 479- 504, 1994.

NELSON, P. E.; TOUSON, T. A.; MARASSAS, W. F. O. *Fusarium espécies, na illustrated manual for indentification*. University Park, p. 193, Pennsylvania State University Press, 1983.

NEVES, C. G.; JESUS, O. N.; LEDO, C. A. S.; OLIVEIRA, E.J. Avaliação agronômica de parentais e híbridos de maracujazeiro-amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 1, p. 191-198, Jaboticabal, SP, 2013.

NIKOLOVA, K.; VELIKOVA, M.; GENTSCHEVA, G.; GERASIMOVA, A.; ESLAVO, P.; HARBALIEV, N.; MAKEDONSKI, L.; BUHALOVA, D.; PETKOVA, N.; GAVRILOVA, A. Chemical compositions, pharmacological Properties and medicianal effects of genus *Passiflora* L.; A review. **Plants**, v. 13, 2º ed, p. 228, Bulgária, 2024.

PARRA, M, À.; GÓMEZ, J.; AGUILAR, F, W.; MARTÍNEZ, J. A. *Fusarium annulatum* causes *Fusarium* roto f cantaloupe melos in Spain. **Phytopathologia mediterrânea**. v. 61, n. 2, p. 269-277. Cartagena, Spain, 2022.

PEREIRA, P. P. A.; LIMA, L. K. S.; SOARES, T. L.; LARANJEIRA, F. D.; JESUS, O. N. DE JESUS.; GIRARD, E. A. Initial vegetative and survival analysis for the assessment of *Fusarium* wilt resistance in *Passiflora* spp.. **Elsevier**, v. 121, p. 195-203, Cruz das Almas, Bahia, 2019.

PINHO, D. B.; MACHADO, A. R.; FIRMINO, A. L.; ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. Princípios e métodos para identificação molecular de fungos. **Métodos em fitopatologia- UFV**, 2ª ed, p. 516, Viçosa, 2016.

PINHO, D. B; MACHADO; A. R.; FIRMINO, A. L. Princípios e métodos para identificação molecular de fungos. In: ALFENAS, A. C; MAFIA, R. G. (Eds). Métodos em fitopatologia. 2ª ed. Viçosa: Editora UFV, 2016, 516p.

PIRES, R. A.; DE JESUS, O. N.; LIMA, L. K. S.; LARANJEIRA, F. F. Ph range and substrate organic matter levels modulate the sporulation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* under controlled conditions. **European Journal of Plant Pathology**, v. 169, p. 503- 514, Feira de Santana, Bahia, 2024.

PORTOLAN, I. B.; PIETROBELLI, S. R.; MOURA, G. S.; FERNANDES, A. P.; BONOME, L. T. DA SILVA.; FRANZENER, G. Action of Trichoderma 1306 in the control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in tomato crops. **Plant Pathology**, v. 87, p. 1-7, Laranjeiras do Sul, PR, Brasil, 2020.

PREISIGKE, S. C.; MARTINI, F. V.; ROSSI, A. B.; SERAFIM, M. E.; BARELLI, A. A.; LUZ, P. B.; ARAUJO, K. L.; NEVES, L. G. Genetic variability of *Passiflora* spp. Against collar rot disease. **Australian Journal of crop Science**, v. 9, p. 69-74, Australia, 2015.

SABIÃO, R. R.; BRUGNARA, E. C.; BARBOSA, V. A. S.; VANIN, V. S. Estabilidade produtiva e diferentes espaçamentos no cultivo anual do maracujazeiro “SCS 437 Catarina” no município de Chapecó, Brasil. **Agropecuária Catarinense**, v. 37, n. 3, p. 78, Florianópolis, 2024.

SANCHEZ, C. *Fusarium* as a promising fungal genus with potential application in bioremediation for pollutants mitigation: A review. **Biotechnology Advances**. México, v. 77, p 108476, 2024.

SANDOVAL- DENIS, M.; LOMBARD, L.; CROUS, P. W. Back to the roots: a reappraisal of *Neocosmospora*. **Personia**, v.43, p. 90-185, South Africa, 2019.

SILVA, A. dos S.; OLIVEIRA, E. J.; BARBOSA, F. F. L.; JESUS, O. N. Seleção de metodologias para inoculação da fusariose do maracujazeiro causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *Passiflorae*. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 51. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA. 2011., P.X. Identification of passion fruit genotypes resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 38, p. 236-242, 2013.

SILVA, A. S.; OLIVEIRA, E. J.; BARBOSA, F. F. L.; DE JESUS, O. N. Seleção de metodologias para inoculação da Fusariose do maracujazeiro causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento- **Embrapa Mandioca e Fruticultura**, v. 51, p. 20, Cruz das Almas, Bahia, 2011.

SILVA, R. M.; AMBRÓSIO, M. M.Q.; AGUIAR, A.V.M; FALEIRO, F. G.; CARDOSO, M.A.S.; MENDONÇA, V. Reação de cultivares de maracujazeiro em áreas com fusariose. **Suma Phytopathol**, v.43, n. 2, p. 98-102, Botucatu, 2017.

Vanderplank, J.; *Passiflora miniata*. *Passiflorae*. **Curtis' s Botanical Magazine**, v. 23, n. 3, p. 223- 230, 2006.

VANDERPLANK, J.; ZAPPI, D. *Passiflora cristalina*, a striking new species of *Passiflorai* (Passifloraceae) from Mato Grosso, Brasil. **Kew Bulletin**, v. 66, n. 1, p. 149-153, Inglaterra, 2011.

VETROVA, S.; ALIOKHINA, K.; ENGALYCHEVA, I.; KOZAR, E.; MUKHINA, K.; SLETOVA, M.; KRIVENKOV, L.; TIKHONOVA, T.; KAMENEVA, A.; FROLOVA, S.; CHIZHIK, V.; MARTYNOV, V. Identification and Pathogenicity of *Fusarium* Species associated with Onion Basal ROT in the Moscow Region of Russia Federation. **Journal of Fungi**, v. 10, n. 5, p. 331, Moscou, Rússia, 2024.

VIDAL, A. H.; SANCHES, M, M.; ALVES-FREITAS, D. M.T.; ABREU, E. F. M.;

LACORTE, C.; PINHEIRO- LIMA, B.; ROSA, R. C. C.; CAMPOS, J. M. A.; VARSANI, A.; RIBEIRO, S. G. First world report of Cucurbit aphid- borne yellows virus infecting *Passion fruit*. **Plant disease**, v. 102, n° 12, p. 2665- 2665, Brasília, 2018.

YILMAZ, N.; SANDOVAL- DENIS, S. M.; LOMBARD, L.; VIDAGIE, C. M.; WILGFIELD, B. D.; CROUS, P. W. Redefining species limits in the *Fusarium fujikuroi* species complex. **Personia- Molecular Phylogeni and Evolution of Fungi**, v. 46, p. 129-162, Petroria, South Africa, 2021.

ZRIBI, I.; GHORBEL, M.; BRINI, F. Pathogenesis related proteins (PRs): From cellular mechanisms to plant defense. Current Protein Peptide. **Bentham Science**, v. 22, 5° ed, p. 396-412, 2021.