

UFRRJ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOSSANIDADE E
BIOTECNOLOGIA APLICADA

DISSERTAÇÃO

**DIAGNOSTICO MOLECULAR E CONTROLE DE *Mycosphaerella*
fijiensis EM BANANEIRA NO ESTADO DE RIO DE JANEIRO**

JOSE LEONARDO SANTOS JIMÉNEZ

2017



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOSSANIDADE E
BIOTECNOLOGIA APLICADA**

**DIAGNOSTICO MOLECULAR E CONTROLE DE *Mycosphaerella
fijiensis* EM BANANEIRA NO ESTADO DE RIO DE JANEIRO**

JOSE LEONARDO SANTOS JIMÉNEZ

Sob a orientação do professor

Paulo Sergio Torres Brioso

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada, Área de concentração em Fitopatologia Aplicada.

Seropédica, RJ

Dezembro de 2017

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Jiménez, Jose Leonardo Santos, 02/02/1990-

J61d DIAGNOSTICO MOLECULAR E CONTROLE DE *Mycosphaerella*
fijiensis EM BANANEIRA NO ESTADO DE RIO DE JANEIRO /
José Leonardo Santos Jiménez. - 2017.

55 f.: il.

Orientador: Paulo Sergio Torres Bioso.

Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro, Fitossanidade e Biotecnologia
Aplicada, 2017.

1. Sigatoka Negra. 2. Fungo. 3. Teste de PCR. 4.
Cirurgia. 5. Severidade. I. Torres Bioso, Paulo
Sergio, 1956-, orient. II Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro. Fitossanidade e Biotecnologia
Aplicada III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOSSANIDADE E BIOTECNOLOGIA
APLICADA**

JOSÉ LEONARDO SANTOS JIMÉNEZ

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada, Área de Concentração em Fitopatologia Aplicada.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 07/12/2017

Paulo Sergio Torres Bioso. Dr. UFRRJ
(Orientador)

Sael Sánchez Elías. Dr. UFRRJ

Ricardo Moreira de Souza. Ph.D. UENF

DEDICO

À Deus por ter-me permitido chegar até este ponto e conseguir meus objetivos,
além de suas abençoes em minha vida e família.

A minha amada esposa Liliana pelo apoio, compreensão e amor constante.

A meu adorado filho Juan José, que é minha maior motivação para não desistir e
poder chegar a ser um exemplo para ele.

Ao meus pais Liliana e Antonio, e meu irmão Samir por seu apoio e ajuda
incondicional, por ser o pilar fundamental em todo o que sou.

AGRADECIMENTOS

Agradeço-lhe primeiramente a Deus por ter-me acompanhado e guiado ao longo de minha carreira, por ser minha fortaleza nos momentos de debilidade e por brindar-me uma vida cheia de aprendizagens, experiências e sobretudo felicidade.

A minha esposa Liliana e meu filho Juan José que além de seu amor, companhia e paciência, sempre foram minhas forças para seguir em frente.

Aos meus pais Liliana e Antonio, e meu irmão Samir, pelo apoio constante e incondicional para mim e minha família, mesmo estando longe, sempre acreditaram em mim e meus logros.

Aos meus sogros Juan Carlos e Cecilia com os que tenho uma excelente relação e foram um apoio incondicional para mim e minha família.

A Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e o Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada por tornar possível esta nova etapa profissional de grande importância para mim.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro, através da concessão de bolsa.

A meu orientador, Professor Paulo Sergio Torres Brioso, pela amizade, orientação, dedicação, ajuda, apoio e confiança na realização deste trabalho.

Ao Professor e atual Reitor Ricardo Luis Louro Berbara, pela sua ajuda e confiança no início do mestrado.

A todos os professores pela contribuição em meu formação acadêmica e profissional.

Ao secretário do PPGFBA, Roberto Tadeu, por me dar suporte no que foi preciso.

A todos os meus companheiros, amigos, colegas e funcionários do Laboratório Oficial de Diagnóstico Fitossanitário da UFRRJ.

A Prefeitura do Município de Angra dos Reis e à Secretaria de Agricultura pelo apoio logístico na realização desta pesquisa.

Ao produtor Maurício, proprietário da área onde realizou-se esta pesquisa.

Ao Laboratório Oficial de Diagnóstico Fitossanitário da UFRRJ pelo apoio e financiamento deste projeto.

Ao colega Eliel Petro pela ajuda na tabulação dos dados em software estatístico.

A todos meus familiares e amigos na Colômbia.

E a todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram na execução deste trabalho.

Muito Obrigado a Todos!

RESUMO

JIMÉNEZ, Jose Santos. **Diagnostico molecular e controle de *Mycosphaerella fijiensis* em bananeira no Estado de Rio de Janeiro.** 2017. 55p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Entomologia e Fitopatologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2017.

A Bananeira (*Musa acuminata* – AAA) tem sido afetada pelo agente da Sigatoka Negra, *Mycosphaerella fijiensis*, no Município de Angra dos Reis (RJ) e, como se trata de uma cultura no Rio de Janeiro de importância para a Agricultura Familiar, a infecção deste fungo pode diminuir ainda mais o rendimento e a produtividade da cultura. Desta forma, amostras de folhas de bananeira ‘Grande Naine’ com sintomatologia característica de Sigatoka Negra, oriundas de Angra dos Reis (RJ) foram coletadas seguido de isolamento fungico em BDA (Batata, Dextrose, Agar), extração de DNA foliar e fungico e teste de PCR para confirmação dito patógeno. Uma vez que a Sigatoka Negra foi assinalada no Município citado, objetivou-se avaliar eficácia de controle através de medida de Cirurgia. Para tal finalidade foi idealizado na forma de blocos inteiramente casualizados contendo três blocos com três repetições cada um. Sendo que cada bloco tinha cinco plantas com tratamento (Cirurgia) e cinco plantas sem tratamento (Controle), num total de 30 plantas com infecção fungica. A cada 15 dias foram feitos os tratamentos, com avaliações mensais da severidade (Média Ponderada da Infecção - MPI) pelo método de Stover modificado por Gauhl. Os resultados obtidos ao final do ensaio evidenciaram diferenças significativas em todas as variáveis (Severidade, folha mais jovem doente, peso e tamanho dos cachos) avaliadas, sendo que o tratamento com Cirurgia proporcionou uma redução da severidade (MPI) ao redor de 58%, confirmando assim que as plantas receberam um tratamento adequado segundo resultados obtidos para esta metodologia, e, contribuindo com o aumento da área foliar sadia nas folhas mais jovens da planta, enquanto que nas plantas sem a Cirurgia (Controle) a severidade aumentou 14,8% em comparação com a avaliação inicial do MPI, e por consequência tendo uma menor área foliar sadia para a realização da fotossíntese e demais processos fisiológicos da planta. Nas variáveis da produção, para o peso dos cachos, número e tamanho dos frutos, as diferenças foram significativas ($P < 0,0001$), chegando a ter um aumento no rendimento de até 300% quando comparado com o Controle. Trata-se, portanto, de um método eficaz de controle para o fitopatógeno da Sigatoka Negra inédita no Estado do Rio de Janeiro e que trará benefícios diretos a Agricultura Familiar para a região de incidência dessa doença em bananeira.

Palavras chave: Sigatoka Negra, Fungo, Teste de PCR, Cirurgia, Severidade.

ABSTRACT

JIMÉNEZ, Jose Santos. **Molecular diagnosis and control of *Mycosphaerella fijiensis* in banana tree in the State of Rio de Janeiro.** 2017. 55p. Dissertation (Master Science in Phytosanitary and Applied Biotechnology). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Entomologia e Fitopatologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2017.

The Bananeira (*Musa acuminata* - AAA) has been affected by the agent of Sigatoka Negra, *Mycosphaerella fijiensis*, in the Municipality of Angra dos Reis (RJ) and, as it is a culture in Rio de Janeiro of importance for Family Agriculture, of this fungus may further decrease yield and yield of the crop. Thus, samples of 'Grande Naine' banana leaves with characteristic symptoms of Black Sigatoka from Angra dos Reis (RJ) were collected, followed by fungal isolation in BDA (Potato, Dextrose, Agar), foliar and fungal DNA extraction and PCR test for confirmation said pathogen. Since Black Sigatoka was reported in the mentioned Municipality, it was aimed to evaluate control efficacy through a Surgery measure. For this purpose was designed in the form of completely randomized blocks containing three blocks with three replicates each. Each block had five plants with treatment (Surgery) and five plants without treatment (Control), in a total of 30 plants with fungal infection. Every 15 days, treatments were performed, with monthly severity assessments (Weighted Mean of Infection - MPI) by the method of Stover modified by Gauhl. The results obtained at the end of the trial showed significant differences in all variables (Severity, younger patient leaf, weight and size of the bunches), and the treatment with Surgery provided a reduction in severity (MPI) of around 58% thus confirming that the plants received an adequate treatment according to the results obtained for this methodology, and, contributing to the increase of the healthy leaf area in the younger leaves of the plant, whereas in the plants without the Surgery (Control) the severity increased by 14.8% in comparison to the initial evaluation of the MPI, and consequently having a smaller leaf area healthy for the accomplishment of the photosynthesis and other physiological processes of the plant. In the production variables, for the weight of the bunches, number and size of the fruits, the differences were significant ($P < F = 0.0001$), reaching an increase in yield of up to 300% when compared to Control. It is, therefore, an effective control method for the phytopathogen of Black Sigatoka unpublished in the State of Rio de Janeiro and that will bring direct benefits to Family Agriculture for the region of incidence of this disease in banana.

Key words: Black Sigatoka, Fungus, PCR Test, Surgery, Severity.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Manejo Fitossanitário no cultivo de plátano (*Musa* spp.): Cirurgia de forma correta (a); Desponta de forma correta (b). 13
- Figura 2.** Mapa do Município de Angra dos Reis, RJ. 14
- Figura 3.** Cultura da bananeira ‘Grande Naine’ (*Musa acuminata* – AAA), com presença de *Mycosphaerella fijiensis*, agente causal da Sigatoka Negra. Município de Angra dos Reis, RJ. 2016. 14
- Figura 4.** Folhas de bananeira ‘Grande Naine’ (*Musa Acuminata* – AAA). Sintomatologia característica de Sigatoka Negra (a, b, c). Município de Angra dos Reis, RJ. 2016. 15
- Figura 5.** Isolamento de *Mycosphaerella fijiensis* em câmara de fluxo laminar. 16
- Figura 6.** Mapa de localização do ensaio. Barrio Ariró, Município de Angra dos Reis, RJ... 17
- Figura 7.** Área de estabelecimento do ensaio, bananeira ‘Grande Naine’ (*Musa acuminata* – AAA). Município de Angra dos Reis, RJ. 2016. 17
- Figura 8.** Ferramentas conhecidas como “Desfolhadora” utilizadas para a pratica de Cirurgia (a, b). 18
- Figura 9.** Desinfestação de ferramentas com hipoclorito de sódio a 0,25%. 19
- Figura 10.** Folhas de bananeira infectadas com Sigatoka Negra deixadas no solo (a, b)..... 19
- Figura 11.** Folhas de bananeira secas e decompostas após 6 semanas (a, b). 20
- Figura 12.** Marcação de plantas para identificação de plantas tratadas e plantas controle (Testemunha) do ensaio (a, b). 20
- Figura 13.** Cirurgia - eliminação de mais de 50% de área foliar infectada com Sigatoka Negra. 21
- Figura 14.** Escala de severidade segundo método de Stover modificado por Gahul (1989)...22
- Figura 15.** Aspectos de colônias de *Mycosphaerella fijiensis*, isoladas em BDA (Batata-dextrose-agar). 25
- Figura 16.** Eletroforese em gel de agarose contendo brometo de etídio (10 mg/ ml) a 1,3% em tampão TAE 1X a 88 volts por 20 minutos, de amostras de morangueiro: Controle negativo - (1); DNA *Ladder* (Thermo Fisher) (2), Controle positivo + (3), DNA de fungos isolados de bananeira (4, 5, 6, 7, 8) testadas com os *primers* ACTR/MFactF para *Mycosphaerella fijiensis*. *Amplicon* de 500 pb..... 26
- Figura 17.** Efeito dos tratamentos (Cirurgia x Controle) sobre a Severidade - Média Ponderada da Infecção (MPI) de Sigatoka Negra nas plantas de bananeira ‘Grande Naine’ (*Musa acuminata* - AAA) nos meses de abril a dezembro. Angra dos Reis, RJ. 2016. 27
- Figura 18.** Efeito dos tratamentos (Cirurgia x Controle) nos meses de abril a dezembro sobre a folha mais jovem doente (FMJD) de bananeira ‘Grande Naine’ (*Musa acuminata* - AAA)

infectadas com Sigatoka Negra. Angra dos Reis, RJ. 2016.	28
Figura 19. Valores médios dos tratamentos (Cirurgia x Controle) sobre peso (I), número (II), comprimento (III) e diâmetro (IV) dos frutos de bananeiras ‘Grand Naine’ (<i>Musa acuminata</i> - AAA) infectadas com Sigatoka Negra. Angra dos Reis, RJ. 2016.	30
Figura 20 (a, b, c, d). Estado da bananeira cv. Grande Naine (<i>Musa acuminata</i> – AAA) no momento do levantamento. Angra dos Reis, RJ. 2016.	38
Figura 21 (a, b, c, d, e). Estado da bananeira cv. Grande Naine (<i>Musa acuminata</i> – AAA) cinco meses após o tratamento com Cirurgia. Angra dos Reis, RJ. 2016.	39
Figura 22 (a, b, c). Cachos em formação de bananeira cv. Grande Naine (<i>Musa acuminata</i> – AAA) de plantas sem tratamento de cirurgia (Testemunha). Angra dos Reis, RJ. 2016.	40
Figura 23 (a, b, c). Cachos em formação da bananeira cv. Grande Naine (<i>Musa acuminata</i> – AAA) com tratamento de Cirurgia. Angra dos Reis, RJ. 2016.	40
Figura 24 (a, b, c). Cachos coletados de plantas de bananeira cv. Grande Naine (<i>Musa acuminata</i> – AAA) de plantas sem tratamento de cirurgia (Testemunha). Angra dos Reis, RJ. 2017.	41
Figura 25 (a, b, c). Cachos coletados de plantas de bananeira cv. Grande Naine (<i>Musa acuminata</i> – AAA) com tratamento de Cirurgia. Angra dos Reis, RJ. 2017.	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais princípios ativos de ação fungicida registrados para controle da Sigatoka Negra na cultura da bananeira e suas principais características.	11
Tabela 2. Classificação da severidade segundo método de Stover modificado por Gahul (1989).	22
Tabela 3. Tabela de campo para cálculo de MPI segundo método de Stover modificado. ...	23
Tabela 4. Significância dos tratamentos para as variáveis avaliadas.	29
Tabela 5. Dados coletados na avaliação de severidade (MPI) de plantas de bananeira cv. Grande Naine (<i>Musa acuminata</i> – AAA) com tratamento de Cirurgia e sem tratamento (Testemunha). Angra dos Reis, RJ. 2016.	42
Tabela 6. Dados coletados na avaliação de folha mais jovem doente (FMJD) de plantas de bananeira cv. Grande Naine (<i>Musa acuminata</i> – AAA) com tratamento de Cirurgia e sem tratamento. Angra dos Reis, RJ. 2016.	42
Tabela 7. Dados coletados na avaliação de produtividade de plantas com tratamento de Cirurgia e sem tratamento (Testemunha). Angra dos Reis, RJ. 2017.	43

SUMARIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVO	3
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1.	Importância Econômica da Bananeira	4
3.1.1.	Importância da bananicultura no Brasil	5
3.2.	Principais Doenças nas Bananeiras	6
3.2.1.	Sigatoka Negra (<i>Mycosphaerella fijiensis</i>)	6
3.2.1.1.	História e importância econômica	6
3.2.1.2.	Sintomatologia	7
3.2.1.3.	Epidemiologia	8
3.2.1.4.	Ciclo de vida	9
3.2.1.5.	Controle	10
3.3.	Controle Cultural denominado de “Cirurgia” da Sigatoka Negra, ocasionada pelo fungo <i>Mycosphaerella fijiensis</i> na cultura da bananeira (<i>Musa</i> spp.)	12
4	MATERIAL E MÉTODOS	14
4.1.	Área de Estudo e Levantamento	14
4.1.1.	Coleta de amostras	15
4.2.	Amostragem fungica e verificação de variabilidade dos isolados relacionados ao fungo <i>Mycosphaerella fijiensis</i> na área de estudo no Município de Angra dos Reis, Rio de Janeiro.	15
4.3.	Deteção molecular dos isolados e amostras foliares relacionados ao fungo <i>Mycosphaerella fijiensis</i> no Estado do Rio de Janeiro.	16
4.3.1.	Extração de DNA total	16
4.3.2.	Análise molecular (Teste de PCR).	16
4.4.	Controle Cultural “Cirurgia” do fungo <i>Mycosphaerella fijiensis</i> agente causal da Sigatoka negra na bananeira no Município de Angra dos Reis, Rio de Janeiro.	16
4.4.1.	Localização	16
4.4.2.	Desenho experimental	18
4.4.3.	Controle por Cirurgia	18
4.5.	Avaliação de incidência e severidade da Sigatoka Negra (<i>Mycosphaerella fijiensis</i>) em bananeira na área de estudo no Município de Angra dos Reis, Rio de Janeiro.	21
4.5.1.1.	Método de Stover modificado por Gahul (1989)	21
4.6.	Avaliação de área foliar sadia o Folha mais jovem doente (FMJD)	23
4.7.	Características de Produtividade	24
4.7.1.	Peso dos cachos por planta	24
4.7.2.	Número de frutos por planta	24
4.7.3.	Tamanho dos frutos (Comprimento e diâmetro) por planta	24
4.8.	Análise Estatística	24
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.	25
5.1.	Variabilidade dos isolados relacionados ao fungo <i>Mycosphaerella fijiensis</i> na área de estudo no Município de Angra dos Reis, Rio de Janeiro.....	25
5.1.1.	Caracterização da estrutura reprodutiva	25
5.2.	Deteção molecular dos isolados e amostras foliares relacionadas ao fungo <i>Mycosphaerella fijiensis</i> no Estado do Rio de Janeiro.	25

5.3.	Controle do fungo <i>Mycosphaerella fijiensis</i> agente causal da Sigatoka negra em bananeira no Município de Angra dos Reis, no Estado do Rio de Janeiro.	26
5.3.1.	Incidência e severidade do fungo	26
5.3.2.	Folha mais jovem doente (FMJD)	27
5.3.3.	Características de produtividade	28
5.3.3.1.	Peso dos cachos, número e tamanho dos frutos	28
6	CONCLUSÕES.	31
7	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
8	ANEXOS.	38

1 INTRODUÇÃO

As bananeiras são plantas herbáceas do gênero *Musa*, da família Musáceae e uma cultura muito importante no mundo, sendo cultivada em mais de 100 países. A produção de bananas tem duas finalidades principais: frutas para consumo e para industrialização (frutas secas, purês, doces, etc.). Mais de 10 milhões de hectares são cultivados mundialmente, com produção total de 115 milhões ton. A produção brasileira de banana (*Musa spp.*) apresenta particular distribuição espacial, estando presente em todos os Estados e ocupando, em alguns, elevada importância social e econômica. A bananeira planta tipicamente tropical, exige calor constante, precipitações bem distribuídas ao longo do ano e elevada umidade para o seu bom desenvolvimento e produção. No Brasil as principais cultivares plantadas são: Prata, Prata Anã, Pacovan, Nanica, Nanicão e Grande Naine. As variedades Ouro e Terra também são cultivadas. Apesar de ser cultivada em uma grande variedade de climas, as condições ideais são temperaturas médias de 27°C, com 60% de umidade relativa e ventos inferiores a 4 m/seg. A bananeira prospera em solos férteis e bem drenados com alta capacidade de retenção de água. É sensível à salinidade, reduzindo a produtividade a partir de CE (condutividade elétrica) acima de 1,0 ds/m. O pH ótimo do solo situa-se entre 5 e 7. Possui sistema radicular superficial não mais do que 80 cm, com 60% da zona radicular ativa nos primeiros 30 cm do solo.

A bananicultura no Estado de Rio de Janeiro tem grande importância econômica e social no Estado e possui um grande potencial de exploração, pois o Estado possui um mercado consumidor de aproximadamente 557.000 toneladas por ano (FIRJAN, 1998). Segundo dados do IBGE (2016), no Estado, a quantidade de bananas (cacho) produzida é de 142.917 toneladas, numa área colhida de 20.774 ha, com rendimentos médios de 6,9 toneladas/hectare. É importante ressaltar que, em sua maioria, os bananicultores ocupam áreas entre dois a cinco hectares (WILKINSON *et al.*, 2012), sendo pequenos produtores ou de agricultura familiar. O Município de Angra dos Reis é o maior produtor no sul do Estado do Rio de Janeiro, com uma produção de 2.600 toneladas de banana, numa área destinada à colheita de 650 hectares (IBGE, 2016).

Um dos problemas fitossanitários da bananeira é a Sigatoka Negra e a Sigatoka Amarela, causadas pelos fungos *Mycosphaerella fijiensis* e *Mycosphaerella musicola* respectivamente, sendo a primeira mais agressiva que a segunda, constituindo-se portanto no principal fator de perda na produtividade dos bananais, com reduções de até 100% na produção comercial de bananas das cultivares suscetíveis. A Sigatoka Negra, caso não sejam adotadas as medidas necessárias de controle, pode substituir a Sigatoka Amarela em uma área num período de quatro anos, podendo quadruplicar o número de pulverizações de fungicidas, como em casos ocorridos na América Central (OROZCO-SANTOS, 1998; MARIN *et al.*, 2003).

O diagnóstico visual desta doença no campo, não é um método confiável ou preciso, já que é preciso necessitar de grande experiência e conhecimento na diferenciação dos sintomas da Sigatoka Negra e Amarela, visto que nos primeiros estágios da doença a sintomatologia pode ser muito parecida uma da outra. Os avanços nas técnicas de biologia molecular oferecem novas alternativas para a identificação de fungos patogênicos. A técnica baseada no

Teste de PCR (JOHANSON & JEGER, 1993) permite diferenciar molecularmente os fungos *M. musicola* e *M. fijiensis*, de maneira rápida e diretamente, a partir de micélio ou de tecido foliar doente. Além disso, o diagnóstico pode ser feito nas fases iniciais da doença, quando não há sintomas claros.

A agressividade do fungo *M. fijiensis*, pode ocasionar perdas altas na produtividade na bananeira, sendo esta uma das doenças mais importantes na cultura da bananeira; no mundo e no Brasil, mesmo tendo vários métodos de controle para o agente desta doença, que vão desde a quarentena, cultivares resistentes, controle químico e controle cultural (GASPAROTTO *et al.*, 2006).

Dentre as práticas culturais, destaca-se a Cirurgia, sendo pouco investigada, já que carece de pesquisas que embasem essa recomendação por não existirem trabalhos publicados que deem suporte técnico e econômico para tal recomendação (GASPAROTTO *et al.*, 2006). A maioria dos controles são químicos junto com alternativas culturais como a cirurgia, mas pelo fato desta cultura no Estado do Rio de Janeiro em sua maioria ser de agricultura familiar e pequenos produtores os quais não dispõem de recursos suficientes para fazer controles químicos, esta pratica consiste na eliminação total ou parcial das folhas afetadas e junto com estas os propágulos do fungo. O manejo de tecido foliar com a presença do fungo é importante para diminuir a esporulação do patógeno através do tempo. As folhas doentes deixadas na planta apresentam o período mais elevado de produção e descarga de ascósporos de *M. fijiensis*, os quais podem sobreviver e ser liberados por mais de 20 semanas (GAUHL, 1994). Sendo que, na folha depositada no solo o patógeno sobrevive de três a seis semanas (GUZMÁN & ROMERO, 1995; VILLALTA & GUZMÁN, 2005). No solo, as folhas decompõem-se após 10 semanas e, por consequência, uma menor sobrevivência dos ascósporos e de liberação de inóculo (GAUHL, 1994). As quantidades mais elevadas de esporulação ocorrem nos primeiros quinze dias, após a necrose de tecido foliar. O mais importante é a eliminação do tecido afetado da planta e sua incorporação ao solo, com a finalidade de acelerar seu processo de degradação. Além disso, a liberação de ascósporos do tecido no solo tem maior limitação para chegar e infectar as folhas novas que estão na parte superior da planta. O corte total ou parcial das folhas depende do grau de severidade nas mesmas, se a infecção é parcial e não é maior de 40 - 50% da área foliar afetada sugere cortar ou fazer cirurgia do tecido afetado. No entanto, se o grau de infecção é maior do que 50% deve-se eliminar a folha toda.

Portanto, objetivou-se nesta pesquisa, confirmar por meio de diagnostico molecular o agente causal da Sigatoka Negra e avaliar a eficácia da Cirurgia como controle do fungo e o efeito desta nas características produtivas da bananeira no Município de Angra dos Reis.

2 OBJETIVO GERAL

Este estudo objetivou confirmar molecularmente e determinar o efeito da Cirurgia para o controle do fungo *Mycosphaerella fijiensis*, agente causal da Sigatoka Negra, na cultura da bananeira no Estado do Rio de Janeiro.

2.1 Objetivos específicos

- ✓ Confirmar molecularmente o isolado de *Mycosphaerella fijiensis* em amostras foliares relacionadas à Sigatoka Negra no Estado do Rio de Janeiro.
- ✓ Avaliar a incidência e severidade da Sigatoka Negra na área de estudo no Município de Angra dos Reis, Rio de Janeiro.
- ✓ Determinar a eficácia do controle, através de Cirurgia, da Sigatoka Negra e o efeito sobre as características de produtividade em bananeira no Município de Angra dos Reis, Rio de Janeiro.

3 REVISÃO DE LETERATURA

3.1 Importância Econômica da bananeira

As primeiras informações da história contemporânea, do início da comercialização efetiva de bananas, datam de 1870, feita em escuna, que transportou da Jamaica para os Estados Unidos (cidade de Jersey) 160 cachos. Exportações esporádicas ocorreram anteriormente das ilhas do Caribe, onde os cultivares Nanica (1829), e Gros Michel (1835) já tinham sido introduzidos. Os primeiros plantios extensivos, na América Central, foram feitos principalmente na Costa Rica, Honduras e Colômbia, entre 1870 e 1879, prevalecendo o cultivar Gros Michel que passou a ser a Rainha das Bananas, até que o Mal-do-Panamá explodiu nesta região em 1900. Novas áreas foram plantadas procurando sempre uma fuga dessa enfermidade. Em 1912, o mal-do-panamá já era bastante grave na Jamaica. Visando diversificar os plantios de ‘Gros Michel’ e ‘Nanica’, foi plantado o cultivar Mysore, que se admite tenha sido introduzido em 1912, na República Dominicana.

A cultivar Gros Michel, pela alta suscetibilidade ao Mal-do-Panamá, foi substituída, em todo o mundo, por diversas cultivares do subgrupo Cavendish, que apresentam alta tolerância ao agente dessa enfermidade. Assim é que encontramos o ‘Poyo’ (ou ‘Robusta’) em Guadalupe e na África Ocidental; a ‘Nanica’ e a ‘Grande Naine’ na Martinica (local de origem dessa última) e a ‘Lacatan’, na Jamaica. No Brasil são encontrados a ‘Nanica’ e a ‘Nanicão’, sendo que a ‘Gros Michel’ nunca chegou a ser plantado comercialmente, pois ele é muito exigente em calor.

Atualmente, para os produtores mundiais que objetivam a exportação são as bananas do subgrupo Cavendish que mais interessam. É preciso que se diga que o mercado mundial tem demonstrado, nesta última década, um interesse crescente por bananas de fritar. É o caso, por exemplo, da Venezuela, que tem uma área de mais de dez mil hectares contínuos do cultivar Harton, semelhante ao nosso ‘Pacova’ e cuja produção é praticamente toda exportada para os EUA. Outros países do Caribe, como Cuba, também são grandes produtores de banana de fritar. No Continente Africano e na Índia, esses tipos de banana têm muita importância, pois são usados como fonte de amido.

No Brasil, os cultivares do subgrupo Prata, em especial o ‘Prata’, são muito importantes por serem os mais consumidos. Os do tipo de fritar, que não apresentavam grande interesse, têm tido, também aqui, maior procura pelos consumidores, nesta última década. A banana constitui hoje grande fonte de divisas para os seguintes países, internacionalmente cognominados Repúblicas Bananeiras: Colômbia, Costa Rica, Equador, Guadalupe, Honduras, Jamaica, Martinica, México, Panamá e Venezuela. Os EUA têm se mantido como o maior comprador de bananas nos últimos vinte anos e apresentado um aumento constante nas importações. O Japão é o segundo maior importador efetivo, pois a Alemanha e a Bélgica reexportam.

A bananeira assume importância econômica e social em todo o mundo, cultivada em mais de 130 países tropicais e subtropicais, principalmente por pequenos agricultores. O Brasil, em 2013 produziu 6,9 milhões de toneladas em uma área de 487 mil ha (FAO, 2014). Esta cultura apresenta importância na geração de empregos, sendo responsável pela renda de

milhões de famílias. A cultura da banana ocupa o segundo lugar em volume de frutas produzidas no Brasil e a terceira posição em área colhida. Está entre as frutas mais consumidas nos domicílios das principais regiões metropolitanas do país, a banana só é superada pela laranja. Consumida pelas mais diversas camadas da população, a banana se faz presente na mesa dos brasileiros não apenas como sobremesa, mas como alimento, com um consumo per capita em torno de 25 kg/ano.

3.1.1 Importância da bananicultura no Brasil

O Brasil é o quarto maior produtor mundial de banana, com 6,7 milhões de toneladas (FAO, 2016), e também o segundo maior consumidor, pois para o povo em geral, ela não é apenas uma fruta, mas um complemento de sua alimentação diária. O maior produtor e consumidor é a Índia. O cultivo da bananeira no Brasil talvez seja uma das poucas explorações agrícolas feitas, em maior ou menor proporção, em quase todos os municípios. É essa frequência que torna o Brasil um grande produtor. A banana e a laranja são as frutas de consumo mais constantes da população, e sua presença é sempre assinalada nos mais diversos mercados e feiras livres.

Com o crescimento da população e melhoria da sua capacidade aquisitiva, houve aumento de consumo desse alimento barato, em todos os mercados consumidores. Paralelamente a esse aumento de consumo, surgiu em nossos bananais, durante a década de 60, a moléstia conhecida por Mal de Sigatoka Amarela ou simplesmente Sigatoka Amarela, causando grandes prejuízos, fez com que a produção diminuísse em quantidade e qualidade. Em consequência, o preço elevou-se e o mercado consumidor passou a exigir que os produtores cuidassem das bananeiras como uma cultura e não mais como uma simples planta de produção quase extrativa, como vinha sendo feito.

Nas últimas décadas, a bananicultura brasileira passou por sucessivas remodelações na tecnologia de cultivo. Os resultados de estudos feitos entre nós, com as bananeiras, principalmente aqueles a partir de 1960, permitiram que se firmassem novos conceitos de produção para nossos agricultores, no que diz respeito a solo, clima, época de plantio, cultivares, aplicação de corretivos de solo, adubação, espaçamento de plantio, rotação de cultura, controle fitossanitário manejo do bananal e da fruta pós-colheita, a fim de atender aos novos mercados brasileiros que se formaram. O elevado preço dos fretes de produtos perecíveis como a banana, tem feito com que muitos plantios, principalmente de frutas e verduras, se desloquem para perto de grandes centros urbanos. Em termos de comercialização exterior, ela é feita praticamente só para os mercados latinos e apenas com bananas de São Paulo junto com as de Santa Catarina e do Rio Grande do Sul, sendo que esses dois últimos a fazem de modo esporádico. Raras exportações tem ocorrido para a Europa.

Quando o produtor brasileiro pensa no plantio de bananas visando o mercado exterior, geralmente está pensando em outros além do Mercosul, tais como o americano e o europeu. Entretanto, ele precisa lembrar também que as exigências do mercado latino são muito menores do que as dos demais. Além disso, comparando-se a média histórica dos preços pagos ao produtor brasileiro, com a dos países que a produzem visando principalmente a exportação, verifica-se que, nos últimos dez anos, a do nosso mercado interno foi mais interessante.

A produção brasileira de banana está distribuída por todo o território nacional, sendo a região nordeste a maior produtora (34%), seguida das regiões norte (26%), sudeste (24%), Sul (10%) e centro-oeste (6%). Na região norte, o Pará e o Amazonas concentram 88% da produção, sendo o Amazonas o segundo produtor. A bananicultura é uma das atividades de maior relevância para o agronegócio da região norte do Brasil, principalmente para o Estado do Amazonas, onde o consumo “per capita” gira em torno de 60 kg/ano. A banana é, portanto, uma das principais bases alimentares para a população amazonense.

A elevada procura por bananas associada à baixa produtividade dos bananais amazonenses, principalmente após a introdução da Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet), doença que induz a perdas da ordem de até 100% em bananeiras dos tipos Prata e Maçã, tem obrigado o Estado a efetuar importações constantes para atender a demanda crescente por bananas. Embora essa região apresente excelentes condições de clima e solo para a produção de banana de alto padrão de qualidade, ainda é preciso superar, em grande parte, a baixa eficiência na produção e no manejo pós-colheita. São vários os problemas que afetam a bananicultura dessa região, que se caracteriza pelo baixo nível de tecnificação empregado nos cultivos, resultando em baixa produtividade e qualidade dos frutos. Além disso, os problemas fitossanitários relacionados às doenças como Sigatoka Negra, Mal do Panamá, Moko, nematóides e viroses contribuem, em alguns casos, com grandes perdas na produção. As cultivares mais produzidas e mais consumidas na região norte são a ‘Maçã’, ‘Prata’ e ‘Pacovan’ (‘D’Angola’), todas altamente suscetíveis à Sigatoka Negra. Com esse fato, a bananicultura tem passado por mudanças substanciais, envolvendo a substituição dos antigos plantios com essas cultivares suscetíveis, por outras resistentes à Sigatoka Negra, como ‘Caipira’, ‘Thap Maeo’, ‘Prata Zulu’, ‘FHIA 18’ e ‘Prata Ken’.

3.2 Principais doenças nas bananeiras no Brasil

As bananeiras são afetadas, durante todo o seu ciclo vegetativo e produtivo, por um grande número de doenças, que podem ser causadas por fungos como *Mycosphaerella fijiensis* (Sigatoka Negra), *Mycosphaerella musicola* (Sigatoka Amarela), *Fusarium oxysporum* (Mal do Panamá), *Colletotrichum musae* (Antracnose da banana); bactérias como *Ralstonia solanacearum* (Moko); vírus (CMV – Badnavirus) e nematoides. As doenças fúngicas constituem-se nos principais problemas fitopatológicos da bananeira em praticamente todos os ecossistemas. Nos Tabuleiros Costeiros essa importância é ampliada em virtude das condições climáticas favoráveis à contaminação e disseminação, a exemplo da incidência de ventos fortes e elevada umidade relativa do ar.

3.2.1 Sigatoka Negra (Causada por *Mycosphaerella fijiensis*)

3.2.1.1 História e importância econômica

A Sigatoka Negra, é considerada atualmente uma das mais importantes doenças da bananeira no mundo (STOVER & SIMMONDS, 1987; CORDEIRO *et al.*, 1995; PEREIRA *et al.*, 1999) e, sem dúvida, a que mais preocupa o setor bananeiro brasileiro (MONTEIRO, 2001; HANADA *et al.*, 2002b). O agente causal da Sigatoka Negra é muito mais destrutivo que o da Sigatoka Amarela (*Mycosphaerella musicola* Leachex Mulder), caracterizando-se por apresentar maior velocidade e intensidade de ataque e por infectar também as folhas mais jovens, destruindo, em consequência, maior quantidade de tecido fotossintetizante (MOURICHON *et al.*, 1997). É, além disso, um fungo difícil de controlar e que apresenta um

espectro maior de cultivares suscetíveis de bananeira dos subgrupos Prata, Cavendish e Terra (BURT *et al.*, 1997; CORDEIRO *et al.*, 1998). O poder de destruição dessa doença e a rapidez com que a mesma vem se disseminando pelas áreas produtoras de banana do mundo, substituindo, em quase todas elas, a Sigatoka Amarela, têm preocupado produtores, pesquisadores e instituições de pesquisa envolvidos com a cultura.

A Sigatoka Negra apareceu pela primeira vez em 1963, nas Ilhas Fiji, no Vale de Sigatoka continente asiático e no continente americano, a doença foi detectada pela primeira vez em Honduras, em 1972; em 1979, já estava na Costa Rica; em 1981 foi registrada na Colômbia; em fevereiro de 1998 chegou ao Brasil nos municípios de Tabatinga e Benjamin Constant no Amazonas, seguindo para o Acre, Rondônia, Pará, Mato Grosso em 1999 e após seis anos foi constatada pelo Instituto Biológico, no Estado de São Paulo, e em 2013 foi detectada no Estado de Rio de Janeiro, nos Municípios de Paraty e Angra dos Reis. No Brasil, desde a sua constatação em 1998, a doença também tem gerado apreensão, devido tanto as suas características como também pela importância da cultura para o país como um todo e, em especial, para alguns Estados. A banana é a segunda fruta mais importante do país, cultivada em uma área aproximada de 510 mil hectares e com uma produção superior a 6 milhões de toneladas (IBGE, 2003). Além disso, entre as cultivares mais plantadas destacam-se a 'Prata', 'Prata Anã', 'Pacovan', 'Maçã', 'Grande Naine', 'Nanica', 'Nanicão', 'Terra' e 'Terrinha', todas suscetíveis à Sigatoka Negra (CORDEIRO *et al.*, 1998; VENTURA & HINZ, 2002).

No Amazonas, cerca de um ano após a contratação da doença nos plantios estabelecidos com cultivares suscetíveis, as perdas na produção atingiram 100% e em pouco tempo os plantios foram abandonados. Cavalcante *et al.* (2004), diagnosticando o impacto da Sigatoka negra na bananicultura no Estado de Acre, constataram que, no período de 2000/2001, houve redução da 42% na produção total do Estado e de 47% no valor da produção de 2001. No Município de Caroebe, no Estado de Roraima, a incidência da Sigatoka Negra nos bananais causou cerca de 75% de redução no peso dos cachos. Os prejuízos causados pela Sigatoka Negra em plantações de bananeira são imensos e podem afetar tanto a qualidade dos frutos como o rendimento da cultura. As manchas foliares decorrentes da ação do fungo reduzem a área fotossintetizante da planta e podem provocar severo desfolhamento (ROMERO & SUTTON, 1998); com isso, o tamanho dos frutos, das pencas e dos cachos e o número de pencas por cacho e, em consequência, o rendimento por unidade de área são severamente afetados (MANICA, 1997; CAVALCANTE *et al.*, 1999). São observadas perdas de rendimento superiores a 20% em parcelas não tratadas com fungicidas (CHUANG, 1981), embora Ploetz (1999) afirme que a redução no rendimento pode chegar a 50% e Gasparotto *et al.* (2001) tenham registrado perdas de 100% a partir do segundo ciclo nas cultivares Maçã, Prata, Terra e D'Angola na região norte do Brasil. A doença, além de afetar a qualidade física dos frutos (tamanho dos dedos) e o rendimento por hectare, provoca a maturação precoce da banana ainda no campo (CORDEIRO *et al.*, 2001) ou durante o transporte para o mercado (STOVER, 1980). Com isso, a vida pós-colheita da fruta é reduzida e a comercialização prejudicada.

3.2.1.2 Sintomatologia

Os sintomas da Sigatoka Negra podem ser descritos em seis estádios de desenvolvimento das lesões:

- Estádio I: Formação de pequenos pontos descoloridos na fase inferior da folha.
- Estádio II: Transformação dos pontos em pequenas estrias de cor café.

- Estádio III: Estrias aumentam na largura e no comprimento.
- Estádio IV: Mudança da cor das estrias de café/negro.
- Estádio V: Formação de halo clorótico ao redor das lesões.
- Estádio VI: Após o coalescimento das lesões ocorre a paralização do crescimento e estas tornam-se deprimidas e secas, verificando-se sobre elas pequenas pontuações escuras que são frutificação do patógeno.

Devido ao fato de a bananeira não mais emitir novas folhas após o florescimento, a doença torna-se extremamente severa após a emissão do cacho, com reflexos na produtividade da planta. Cerca de 40 dias após o florescimento, as plantas encontrasse com as folhas totalmente destruídas; os frutos não se desenvolvem, ficam pequenos, com maturação precoce e desuniforme.

3.2.1.3 Epidemiologia

A Sigatoka Negra é causada pelo fungo *Mycosphaerella fijiensis* Morelet [fase anamórfica ou assexuada: *Pseudocercospora fijiensis* (Morelet) Deighton], sendo ambas as fases importantes no desenvolvimento da doença. A fase sexuada (*M. fijiensis*), que constitui o inoculo primário, permite a sobrevivência do patógeno principalmente quando as condições ambientais são desfavoráveis (períodos frios e de baixa umidade relativa do ar). Por outro lado, a fase conidial ou assexual (*P. fijiensis*), que constitui o inoculo secundário, garante a rápida multiplicação do patógeno em menor espaço de tempo e em maior quantidade. Isso resulta em uma maior velocidade de desenvolvimento da doença que, de um modo geral, ocorre nos períodos mais quentes e com umidade relativa mais elevada (PEREIRA *et al.*, 1999).

Os ascósporos, devido a sua produção em grande número nos pseudotécios, são as estruturas de disseminação do patógeno mais importantes em bananais (STOVER, 1980, PLOETZ, 1999), embora os conídios também sejam capazes de disseminar o fungo (JACOME & SCHUH, 1992; JACOME & SCHUH, 1993a; JACOME & SCHUH, 1993b; PLOETZ, 1999).

Com relação aos agentes de disseminação dos esporos do fungo, o vento, a chuva e a água de irrigação são considerados os mais importantes a curta distância, dentro das plantações (PLOETZ, 1999). A longa distância, mudas doentes e folhas infectadas, geralmente utilizadas como proteção nos cachos durante o transporte para evitar ferimentos nos frutos, são os meios mais eficientes e rápidos de disseminação do patógeno para áreas livres da doença (MOURICHON *et al.*, 1997; HANADA *et al.*, 2002b).

HANADA *et al.* (2002b) comprovaram que os conídios sobrevivem em diferentes materiais, independentemente das condições ambientais testadas (sala com ar condicionado, temperatura de 17,8 a 20,1 °C e 40-50% de UR; sala com temperatura ambiente, de 23,6 a 29,8 °C e 55-75% de UR; e galpão em condições de campo, temperatura de 22,2 a 30,9 °C e 60-92% de UR), embora por períodos de tempo variáveis. Em folhas de bananeira e tecido de algodão os conídios permaneceram viáveis por até 60 dias; em papelão, madeira, plástico e pneu, por 30 dias; em frutos, por 18 dias (devido ao apodrecimento) e em estruturas de ferro, por 10 dias.

A germinação dos ascósporos e conídios e o desenvolvimento da doença são fortemente influenciados por fatores ambientais, como chuva, temperatura, umidade relativa e vento. Pereira *et al.* (1999) afirmam que o esporo germina, quando depositado sobre folhas suscetíveis (vela, 1, 2 e 3), se um filme de água estiver presente sobre elas. Entretanto, Jacome & Schuh (1992) comprovaram que apenas os ascósporos requerem umidade na superfície da folha para germinar e que a infecção por conídios ocorreu independentemente da presença de água, exigindo-se, apenas, elevada umidade relativa do ar. Nesse caso, os sintomas da doença apareceram mesmo com a redução do tempo de permanência da água na folha de 18 para 9 e 0 horas, embora com atraso de 7 e 14 dias, respectivamente. Esse atraso, segundo os autores, pode estar associado ao maior período de tempo que os conídios levaram para absorver a água necessária para a germinação.

3.2.1.4 Ciclo de vida

O ciclo da doença inicia com a germinação dos esporos após serem disseminados pela ação da água e dos ventos. Para ocorrer os processos de germinação e penetração é indispensável a presença de água na superfície das folhas. Os esporos germinam no máximo até duas horas após inoculação, emitindo tubos germinativos retos que se ramificam e em cerca de 48 a 72 horas, penetram através dos estômatos (VARGAS, 1996). O patógeno causa infecções na vela e nas folhas um, dois e três (JACOME *et al.*, 1991; JACOME & SCHUH, 1992; PORRAS & PEREZ, 1997). Os primeiros sintomas são pequenas estrias de coloração marrom-claras que surgem na face abaxial da extremidade esquerda da folha, cerca de 15 a 20 dias nas bananeiras verdadeiras e em torno de 29 dias nos plátanos, após a inoculação. As estrias se expandem, coalescem e em torno de 35 a 40 dias formam manchas necróticas. No início do aparecimento dos sintomas, principalmente na face abaxial, a hifa pode crescer intercelularmente de um estômato para outro, emitindo conidióforos que irão produzir conídios que são facilmente destacados e disseminados pelo vento, infectando folhas novas da mesma planta ou de outras plantas do mesmo bananal ou de outros plantios. Além da produção de conidióforos e conídios, as hifas podem se desenvolver sobre a folha e penetrar nos estômatos infectando outras áreas do limbo. Nesta fase do ciclo, os conídios são os principais propágulos de disseminação, mesmo na estação seca, uma vez que os ascósporos necessitam de maior umidade para germinar. Em poucos dias as lesões começam a coalescer e as manchas tornam-se marrom-escuras a negras. A formação e liberação dos conídios ocorrem desde o início dos primeiros sintomas, cerca de 28 dias nas bananeiras e 34 dias nos plátanos, após a inoculação. A duração do período conidial e a quantidade de conídios produzidos dependem principalmente da susceptibilidade da cultivar e da umidade sobre as folhas. A formação dos ascósporos inicia cerca de três a quatro semanas após o surgimento dos primeiros sintomas; quando a doença já se encontra em estágio final, a mancha fica deprimida com coloração cinza-clara e no centro das lesões são observados pontos negros que correspondem aos corpos de frutificação sexual, os peritécios ou espermagônios, que geralmente se apresentam isolados. A produção de ascósporos é mais intensa na época chuvosa, pois a chuva favorece a formação das estruturas reprodutivas sexuais (SANDOVAL, 1998). A fase assexuada é uma das mais importantes no aumento da doença, principalmente na disseminação em média e longa distância. O início da liberação dos ascósporos em banana ocorre cerca de 49 dias após a inoculação, e nos plátanos, 64 dias após (VARGAS, 1996).

Segundo Sandoval (1998), a Sigatoka Negra apresenta durante o ano uma variação nos níveis de severidade de acordo com as condições climáticas prevalentes. Durante os meses mais secos, a doença permanece na fase endêmica, pois as condições de umidade por novas

infecções. O ciclo se alonga consideravelmente e as lesões nas folhas não se desenvolvem, como consequência ocorrem os menores níveis de doença (GAUHL, 1994). Durante esse período, os ascósporos sobrevivem no interior dos peritécios em lesões velhas de folhas altamente infectadas, aderidas às plantas ou caídas no solo (STOVER, 1980).

Quando iniciam as chuvas, há abundante liberação de ascósporos das lesões velhas que provocam grande quantidade de infecções na vela e folhas um, dois e três. O ciclo de vida descrito anteriormente é válido para regiões que apresentam períodos secos e chuvosos ou inverno e verão definidos, como as regiões sul e sudeste do Brasil e, provavelmente, as regiões nordeste e centro-oeste. Na região amazônica e em países onde as condições são extremamente favoráveis a doença, as fases conidial e ascosporica são concomitantes e ocorrem continuamente. Os ciclos são extremamente reduzidos, as perdas são totais, exigindo aplicação de fungicidas o ano todo, elevando os custos de produção e tornando a atividade antieconômica para a maioria dos pequenos e médios produtores. A Sigatoka negra é uma doença policíclica que caracteriza pela sequência contínua de infecção, colonização, esporulação, disseminação e infecções concomitantes de ambos os esporos, pois as formas conidiais e ascosporicas coexistem (ZADOKS & SCHEIN, 1979). A fase sexuada e considerada uma das mais importantes no aumento da doença, principalmente na disseminação em média distância. O maior impacto como fonte de inoculo dos ascósporos ocorre durante a estação chuvosa. Na estação seca a fase sexual passa a ser uma importante fonte de sobrevivência do patógeno. O tempo para completar o ciclo de vida do patógeno, desde os primeiros sintomas até que as lesões atinjam o estágio de queima, depende da susceptibilidade da cultivar, da variabilidade do patógeno e dos fatores climáticos, principalmente temperatura e umidade. Nos períodos de seca o ciclo são longos (120 – 150 dias) e nas épocas chuvosas são curtos (30 – 50 dias) (SANDOVAL, 1998).

Resumidamente o ciclo da Sigatoka Negra é rápido, 15 a 20 dias após a inoculação surgem os primeiros sintomas, 5 a 7 dias inicia-se a produção de conídios e cerca de 35 a 40 dias após inoculação as folhas das cultivares suscetíveis se encontram totalmente necrosadas, com manchas cinzas e pontuações negras que correspondem aos peritécios que liberam ascósporos.

3.2.1.5 Controle

A Sigatoka Negra apresenta grande importância econômica, por exigir um controle mais rígido e frequente que as demais doenças. Estima-se que o custo anual das aplicações de fungicidas para o seu controle varia de US\$ 1.000 a US\$ 1.400 por hectare (PLOETZ, 1999; RANGEL *et al.*, 2002), valor que encarece o custo de produção em aproximadamente 25% (PLOETZ, 1999). A Sigatoka Negra apresenta também um importante custo social na medida em que a tecnologia de controle químico adotada em muitos países da América Central e do Sul não é acessível a todos os produtores, especialmente os pequenos, que se tornam os mais prejudicados pela incidência da doença (BURT *et al.*, 1997). Além disso, sua ocorrência forçou a alteração da forma de controle, através do aumento do número de aplicações de fungicidas e óleo mineral e melhoria das técnicas de aplicação. Segundo Romero & Sutton (1997), entre 1989 e 1991, o controle da Sigatoka Negra em muitas plantações da Costa Rica baseava-se na aplicação alternada dos fungicidas sistêmicos propiconazole, benomil e tridemorph, onde se requeria de 18 a 23 pulverizações por ano para um controle satisfatório. A partir de 1992, com a retirada do benomil dos programas de controle (por causa da resistência desenvolvida pelo fungo *M. fijiensis*), o número de aplicações de propiconazole

aumentou para 10 por ano, o mancozeb foi reintroduzido nos programas de controle e o intervalo entre aplicações foi reduzido de 18 a 21 dias para 12 a 14 dias devido ao controle insatisfatório alcançado, resultando em um aumento do número de aplicações para 35 por ano, em média. Atualmente, de acordo com Rangel *et al.* (2002) para o controle da Sigatoka Negra realiza-se entre 20 e 30 aplicações de fungicidas por ano no Equador, entre 40 a 50 na Costa Rica e 52 aplicações no México. O aumento no número de aplicações poderá ocasionar maiores danos ambientais e deverá obrigar a utilização de novos produtos, mais eficientes, mas que não se conhece exatamente o impacto ambiental que poderão ocasionar.

No Brasil o uso de agrotóxicos no controle da Sigatoka Negra são os seguintes:

Tabela 1. Principais princípios ativos de ação fungicida registrados para controle da Sigatoka Negra na cultura da bananeira e suas principais características. (Fonte: Agência de Informação Embrapa Banana)
http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia40/AG01/arvore/AG01_45_41020068055.htm

I

INGREDIENTE ATIVO	Form ¹ .	Classe ²		Dose do produto comercial (PC)	Grupo químico	Intervalo de segurança (dias)	Volume de calda terrestre (L/ha)
		Toxicológica	Ambiental				
piraclostrobina ³	EC	II	II	0,4 L/ha	estrobilurina	-	15-20
epoxiconazol ³ + piraclostrobina	SE	II	II	0,5 L/ha	triazol + estrobilurina	3	15-20
difenoconazole ³	EC	I	II	0,2 L/ha	triazol	7	500-1000
oxicloreto de cobre	WP	IV	IV	350 g/100L	inorgânico	7	700-1000
triadimenol	GR	IV	III	12,5 g/planta	triazol	14	-
triadimenol	EC	II	II	0,4 L/ha	triazol	14	-
chlorotalonil	SC	I	II	1-2 L/ha	isoflortalonitrila	7	250-500 30-40 - aéreo
tridemorph	OL	III	II	0,5 L/ha	morfolina	1	15 - aéreo
tiofanato-metilico	SC	IV	III	100 mL/100L	benzimidazol (precursor de)	14	400-600 30-40 - aéreo
tiofanato-metilico	WP	IV	II	300 a 400 g/ha	benzimidazol (precursor de)	14	700-1000
tiofanato metilico	SC	IV	III	0,4 a 0,6 L/ha	benzimidazol (precursor de)	14	400-600
óxido cuproso	WP	IV	*	180 g/100L	Inorgânico	7	1000
bromuconazole	EC	II	II	625 mL/ha	triazol	3	30-40 12-15 - aéreo
tebuconazole	EC	III	II	0,5 L/ha	triazol	5	10-30 - aéreo
oxicloreto de cobre	WP	IV	IV	300 g/100L	inorgânico	7	1000-1200
mancozeb + oxicloreto de cobre	WP	III	*	250 g/100L	alquilenobis (ditiocarbamato)	21	500-1500
hidróxido de cobre	WP	IV	III	200 g/100L	inorgânico	7	1000
óleo mineral	EW	IV	III	12 L/ha	hidrocarbonetos alifáticos	1	-
propiconazol	EC	III	II	0,4 L/ha	triazol	1	15-20 - aéreo
mancozebe	WP	III	*	2-3 kg/ha	alquilenobis (ditiocarbamato)	21	400-1000
pirimetanil	SC	III	II	1 L/ha	anilinopirimidina	3	-
epoxiconazol	SC	III	II	0,4 L/ha	triazol	3	15 - aéreo
azoxystrobina	SC	III	III	200-400 mL/ha	estrobilurina	7	100-200 20 - aéreo

Recomenda-se a utilização de práticas culturais que reduzam a formação de microclimas favoráveis ao desenvolvimento da Sigatoka Negra, especificamente como:

Drenagem: A drenagem rápida de qualquer excesso de água no solo ajuda a reduzir o desenvolvimento da doença.

Combate às plantas infestantes: As plantas infestantes além de competir com as bananeiras, favorecem o desenvolvimento dos fungos.

Cirurgia: No caso de infecções concentradas, recomenda-se a eliminação apenas da parte afetada. Quando, porém, o grau de incidência for alto e a infecção tiver avançado extensamente sobre a folha, recomenda-se que esta seja totalmente eliminada. Não há necessidade de retirar as folhas do bananal. Essas devem ser amontoadas ou mantidas ao longo da fileira de plantio.

Nutrição: Plantas adequadamente nutridas resistem mais às doenças, pois emitem folhas com maior frequência, o que compensa as perdas provocadas pelas Sigatokas.

Sombra: As plantas mantidas sob condições sombreadas apresentam pouca ou nenhuma doença. Isso se deve, provavelmente, à redução ou não formação de orvalho, importante fator no processo de infecção, e, ainda, redução na incidência de luz, que é importante no desenvolvimento da doença.

Pode-se fazer também o controle através de medidas de exclusão e monitoramento: a) Evitar o transporte de mudas, frutas, folhas ou partes da bananeira das regiões afetadas; b) Proibir o trânsito de bananas envoltas em folhas de bananeiras, pois são um meio efetivo de disseminação do patógeno a longa distância; c) Evitar o transporte de bananas em caixas difíceis de serem desinfestadas e não reutilizar caixas provenientes de regiões onde ocorre a doença que contenham restos de banana ou folhas; d) Desinfestar caixas, caminhões, roupas e outros equipamentos utilizados na colheita quando provenientes de outras regiões, principalmente das afetadas; e) Denunciar o transporte ilegal de banana ou de cachos de banana às autoridades competentes; f) Erradicar pomares abandonados para que não venham a constituir-se em fontes de inóculo; g) Utilizar mudas certificadas no estabelecimento de plantios; h) Realizar os tratos culturais recomendados no pomar, como o controle da Sigatoka-amarela, desfolha fitossanitária, controle de ervas daninhas, desbastes e utilização dos espaçamentos adequados; i) Procurar imediatamente um técnico especializado em caso de suspeita de ocorrência de sintomas da doença; j) Aumentar a fiscalização nos postos de controle nas fronteiras dos estados; k) Promover campanhas educativas e elucidativas sobre a doença.

3.3 Controle cultural denominado de Cirurgia da Sigatoka Negra ocasionada pelo fungo *Mycosphaerella fijiensis* na cultura da bananeira (*Musa spp.*)

Esta é uma das práticas mais importante para reduzir ou eliminar a principal fonte de inóculo (MARÍN & ROMERO, 1992; OROZCO-SANTOS *et al.*, 2002; MARÍN *et al.*, 2003). A cirurgia considera-se como uma poda de sanidade. O propósito desta prática é eliminar de maneira total ou parcial o tecido afetado das plantas e junto com este os propágulos do fungo. As folhas doentes deixadas na planta apresentam o período mais elevado de produção e descarga de ascósporos de *M. fijiensis*, os quais podem sobreviver e ser liberados por mais de

20 semanas (GAUHL, 1994). Já as folhas depositadas no solo, o patógeno sobrevive de três a seis semanas (GUZMÁN & ROMERO, 1995; VILLALTA & GUZMÁN, 2005). No solo, as folhas decompõem-se após 10 semanas, provocando a morte do patógeno e por consequência uma menor sobrevivência das ascósporos e de liberação de inóculo (GAUHL, 1994). As quantidades mais elevadas de esporulação ocorrem nos primeiros quinze dias após a necrose do tecido foliar; no entanto as lesões de Sigatoka negra continuam contribuindo à produção de inóculo até após 30 dias de ter-se cortado e depositado as folhas no solo (VILLALTA & GUZMÁN, 2005). Mas a liberação de ascósporos do tecido no solo tem maior limitação para chegar e infectar as folhas novas que estão na parte superior da planta. A descarga de ascósporos do tecido foliar doente está estreitamente relacionada com fatores ambientais, principalmente a precipitação. Em regiões de climas úmidos com precipitações distribuídas durante todo o ano, a liberação de inóculo ocorre praticamente em todos os meses (GAUHL, 1994; MARÍN *et al.*, 2003). Em mudança, em regiões com clima de trópico seco, a maior descarga de ascósporos ocorre durante a época de chuvas, enquanto durante a temporada seca a liberação de inóculo é baixa (OROZCO-SANTOS *et al.*, 2002). Este comportamento da doença faz necessário que o manejo do tecido foliar afetado tenha que ser sumamente estrito durante os períodos chuvosos. O mais importante é a eliminação do tecido afetado da planta e sua incorporação ao solo, com a finalidade de acelerar seu processo de degradação. O corte total ou parcial das folhas depende do grau de severidade nas mesmas. Se a infecção é parcial e não alcança os 30-40% da área foliar doente se sugere cortar ou fazer cirurgia do tecido afetado. Já, se o grau de infecção é maior do que 50% deve ser eliminada toda a folha.

Por outro lado, Merchán & Chavarriaga (1994) recomendam na Colômbia que a Cirurgia (Figura 1) em plátano 'Hartón' (ABB) deve ser realizada com uma periodicidade de quatro semanas durante a época seca e a cada duas semanas na época de chuvas. Nesta cultivar demonstrou-se que somente com esta prática, a Sigatoka Negra pode ser mantida em níveis de infecção baixos e somente, sob estas condições, foi possível produzir fruta de qualidade para o mercado interno.



Figura 1. Manejo Fitossanitário no cultivo de plátano (*Musa* spp.): Cirurgia de forma correta (a); Desponta de forma correta (b). Fonte: <https://www.ica.gov.co/getattachment/08fbb48d-a985-4f96-9889-0e66a461aa8b/-nbsp;Manejo-fitosanitario-del-cultivo-de-platano.aspx>

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área de estudo

A área de estudo localiza-se no Estado de Rio de Janeiro, no Município de Angra dos Reis, onde foi feito o levantamento numa cultura de bananeira ‘Grande Naine’ (*Musa acuminata* - AAA) com sintomatologia característica nas folhas de Sigatoka Negra e onde se fez o tratamento de controle denominado de Cirurgia. No Laboratório Oficial de Diagnostico Fitossanitário – L.O.D.F. da UFRRJ, no Município de Seropédica, foram feitos os procedimentos necessários para confirmar o fitopatógeno por meio de diagnostico molecular.



Figura 2. Mapa do Município de Angra dos Reis, RJ. (Fonte: Google maps).



Figura 3. Cultura da bananeira ‘Grande Naine’ (*Musa acuminata* – AAA), com presença de *M. fijiensis*, agente causal da Sigatoka Negra. Angra dos Reis, RJ. 2016.



Figura 4. Folhas de bananeira ‘Grande Naine’ (*Musa acuminata* – AAA). Sintomatologia característica de Sigatoka Negra (a, b, c). Angra dos Reis, RJ. 2016.

4.1.1 Coleta de amostras

Se coletaram amostras foliares da bananeira ‘Grande Naine’ com lesões características de Sigatoka Negra, na área de estudo do Município citado, sendo as mesmas acondicionadas em sacos de papel, lacrados, acondicionados em recipiente com gelo e direcionados ao Laboratório Oficial de Diagnostico Fitossanitário da UFRRJ, onde foram feitos os procedimentos de identificação e confirmação do agente causal ao Microscópio Estereoscópico e Ótico, isolamento do fungo em meio de cultura BDA, extração do DNA fúngico, seguido do Teste de PCR com os *primers* ACTR/MFactF para *M. fijiensis*, conforme citado por Brioso & Gasparotto (2012).

4.2 Amostragem fungica e verificação da variabilidade dos isolados relacionados ao fungo *Mycosphaerella fijiensis* na área de estudo no Município de Angra dos Reis, Rio de Janeiro

Depois da coleta de amostras, levava-se ao laboratório, sendo feitos os isolamentos do fungo na câmara de fluxo laminar, onde pequenos fragmentos retirados da área de transição da lesão foram imersos em água destilada e esterilizada por 15 minutos, deposição em hipoclorito de sódio a 0,25% por 15 minutos, posteriormente foram deixados na água destilada e esterilizada por mais 15 minutos, depois os fragmentos foram colocados sobre papel filtro por dois minutos para secar e finalmente transferidos para placas de Petri, contendo meio BDA (Batata-Dextrose-Agar). As placas foram mantidas em Estufa B.O.D. por 10 dias a temperatura de $23 \pm 2^\circ\text{C}$ em fotoperíodo de 12 h de luz/ 12 h de escuro.

A variabilidade foi feita avaliando cada um dos isolados com base no número de septos e forma dos mesmos, utilizando o microscópio ótico, com a finalidade de evidenciar diferenças morfológicas com outros isolados caracterizados em outras pesquisas.



Figura 5. Isolamento de *M. fijiensis* em câmara de fluxo laminar.

4.3 Detecção molecular dos isolados e amostras foliares relacionados ao fungo *Mycosphaerella fijiensis* na área de estudo no Município de Angra dos Reis, Rio de Janeiro

A detecção foi feita por meio do Teste de PCR (JOHANSON & JEGER, 1993), extraindo o DNA das amostras foliares infectadas e dos isolamentos do fungo.

4.3.1 Extração DNA total

Para a extração do DNA total das amostras foliares e isolados do fungo foi utilizado a *DNeasyPlant Mini Kit* (QIAGEN BRASIL), e a metodologia do processo foi realizada conforme a recomendação do fabricante.

4.3.2 Análise molecular (Teste de PCR)

Para o Teste de PCR foram utilizados os *primers* ACTR/MFactF para *M. fijiensis*. As condições do ciclo do Teste de PCR foram 95°C por 5 minutos; seguido de 36 ciclos de 94°C durante 30 segundos, 60°C durante 30 segundos e 72°C durante 60 segundos; e uma elongação final a 72°C durante 7 minutos. Os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,3 % (p/v), contendo brometo de etídio (0,25 µg / ml) e visualizados sob luz ultravioleta (UV). Como padrão de massa molecular foi adotado o 1 kb DNA "Ladder" (Invitrogen).

4.4 Controle por Cirurgia em bananeira com Sigatoka Negra no Município de Angra dos Reis, Rio de Janeiro

4.4.1 Localização

A pesquisa foi realizada no Município de Angra do Reis, Bairro Ariró, localizado no sul do Estado de Rio de Janeiro. O Município tem um clima tropical, com precipitações significativas, inclusive no mês mais seco há muita chuva. A temperatura média anual encontra-se a 23.2°C e uma precipitação média de 1975 mm (INMET, 2016). O experimento foi estabelecido numa área de plantio com bananeira 'Grande Naine' (*Musa acuminata* – AAA) de quatro a cinco anos, utilizando-se 30 plantas com quatro meses de idade e com a

presença nas folhas de *M. fijiensis*, agente causal da Sigatoka Negra. O tratamento foi iniciado no mês de maio e finalizando no mês de dezembro, já que as plantas estavam próximas a serem colhidas.



Figura 6. Mapa de localização do ensaio. Barrio Ariró, Município de Angra dos Reis, RJ. (Fonte: Google maps).



Figura 7. Área de estabelecimento do ensaio, bananeira 'Grande Naine' (*Musa acuminata* – AAA). Angra dos Reis, RJ. 2016.

4.4.2 Desenho Experimental

O desenho experimental foi o de blocos inteiramente casualizados com três repetições, onde cada bloco tinha cinco plantas com tratamento (Cirurgia) e cinco plantas sem tratamento (Controle), dando assim um total de 30 plantas.

O tratamento foi feito a cada 15 dias começando em maio e finalizando em dezembro de 2016. Cabe ressaltar, que durante todo o tempo do experimento realizaram-se três controles de plantas daninhas em toda a área e também foi realizada a prática de eliminação do “coração ou umbigo” no momento de desenvolvimento do cacho nas 30 plantas do experimento. Não foi feita nenhuma outra pratica de manejo no experimento durante o tempo deste, ou seja, adubação, controle de pragas, desbaste, desbaste de pencas, etc.

4.4.3 Controle por Cirurgia

Realizou-se a cirurgia em cada planta com presença de sintomas da doença, a ferramenta utilizada para esta pratica é conhecida como desfolhadora (Figura 8). Depois de se fazer o tratamento em cada planta fez-se desinfestação da ferramenta de corte com hipoclorito de sódio na concentração de 0,25% (Figura 9). O tratamento consistiu em eliminar folhas com mais de 50% da presença de sintomas caraterísticos de Sigatoka Negra, enquanto as que apresentavam menos de 50% da presença de sintomas se eliminava só a parte afetada e, também eliminou-se 16% da folha número 3 (de cima para baixo), mesmo assintomática, permitindo assim a eliminação do tecido foliar potencialmente infeccioso, evitando a produção e liberação de ascósporos do fungo. As folhas representavam a única fonte de inóculo da doença, portanto, o manejo destas foi importante para diminuir a esporulação do patógeno no tempo. As folhas ou áreas destas eliminadas na prática de Cirurgia foram depositadas no solo (Figura 10), já que além de se decompor, provocam a morte do fungo, permite uma menor liberação de ascósporos e, também serve como controle de plantas daninhas na área da cultura.



Figura 8. Ferramentas conhecidas como “Desfolhadora” utilizadas para a pratica de Cirurgia (a, b).



Figura 9. Desinfestação de ferramentas com hipoclorito de sódio a 0,25%.



Figura 10. Folhas de bananeira infectadas com Sigatoka Negra deixadas no solo (a, b).



Figura 11. Folhas de bananeira secas e decompostas após 6 semanas (a, b).



Figura 12. Marcação de plantas para identificação do tratamento e controle do ensaio (a, b).



Figura 13. Cirurgia - eliminação de mais de 50% de área foliar infectada com Sigatoka Negra.

4.5 Avaliação de incidência e severidade de Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*) em bananeira na área de estudo no Município do Angra dos Reis, RJ

No momento do levantamento e depois de observar a sintomatologia característica de Sigatoka Negra nas bananeiras nesta área, foram feitas as avaliações de incidência e severidade segundo a metodologia de Stover modificado por Gauhl (1989), do fungo nesta área, para saber em que condições de níveis de infecção encontrava-se a bananeira.

Para a avaliação da incidência foi feito a contagem de todas as plantas de bananeira com infestação do fungo, observando-se e analisando-se a área foliar de cada planta para determinar a presença de sintomas de Sigatoka Negra.

A avaliação da severidade do fungo foi feita por meio da metodologia de Stover modificado por Gauhl (1989). A avaliação da severidade foi feita mensalmente durante o tempo do tratamento, avaliando a severidade das plantas tratadas (Cirurgia) e das plantas sem tratamento, com o finalidade de saber se estava sendo feito um manejo adequado no tratamento desta doença.

4.5.1 Método de Stover modificado por Gauhl (1989)

Este método estimou visualmente a área total coberta pela doença em plantas. Utilizando-se de uma escala composta seis graus de infecção (Tabela 1). Foram avaliadas todas as folhas presentes, exceto a folha vela e as folhas lesionadas (folhas secas ou que têm morrido pela doença).

Para avaliar a severidade da doença calcula-se:

- ✓ Número de Folhas por Planta (F/P)
- ✓ Folha Mais Jovem Doente (FMJD)
- ✓ Número de Folhas com Grau de Infecção (NFGI)
- ✓ Média Ponderada de Infecção (MPI)

Tabela 2. Classificação da severidade segundo método de Stover modificado por Gahul (1989).

Grau	Descrição de dano na folha
1	Até 10 manchas por folha
2	Menos do 5% do área foliar doente
3	De 6 – 15% do área foliar doente
4	De 16-33% do área foliar doente
5	De 34-50% do área foliar doente
6	Mais do 50% do área foliar doente

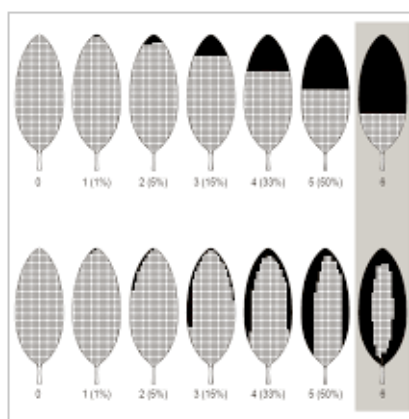


Figura 14. Escala de severidade segundo método de Stover modificado por Gahul (1989).

4.5.1.1 Procedimento para determinação da severidade segundo metodologia de Stover modificado por Gauhl (1989)

Em cada planta procedeu-se a contagem e numeração do total das folhas em cada planta. Esta contagem foi realizada de cima para baixo alternando (pares e ímpares) a partir das folhas 1 e 2. A folha mais próxima à folha vela considera-se a folha N° 1.

Determinou-se a **folha mais jovem doente (FMJD)**. Esta é a primeira folha contando de cima para baixo que tem pelo menos 10 manchas (Grau 1).

A partir da **FMJD** estimou-se visualmente a área coberta por manchas de Sigatoka Negra em cada folha e determinou-se o grau de infecção de acordo com a escala de 1 a 6.

A média ponderada de infecção (**MPI**) é um índice da severidade da doença na cultura avaliada, seu valor deve ser de 2 ou menos em culturas que tem um manejo adequado desta doença.

A média do número de folhas por planta (**F/P**) obtém-se contando o total de folhas e dividindo pelo total de plantas avaliadas (**P**).

A percentagem de folhas infectadas por grau (**%FIG**), obtém-se dividindo o número total de folhas em cada grau (**NFGI**) pelo número total de folhas (total de H/P) e multiplicando por 100.

A percentagem total de folhas infectadas obtém-se ao somar o valor de todos os graus do primeiro ao sexto.

Para calcular o MPI multiplica-se a percentagem de folhas da cada grau pelo correspondente valor do grau na escala de Stover modificada (1-6). A cada resultado soma-se e o total e divide-se por 100.

Tabela 3. Tabela de campo para cálculo de MPI segundo método de Stover modificado.

Número ou posição da folha													NFGI							
P	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	F/P	FMJD	0	1	2	3	4	5	6	
1																				
2																				
3																				
4																				
5																				
6																				
7																				
8																				
9																				
10																				
11																				
12																				
13																				
14																				
15																				
O número em cada quadro indica o grau de infecção de 0 a 6 pela Escala de Stover											TOTAL									
											MEDIA									
											MPI									

$$\%FIG = \frac{N^\circ \text{ Total de folhas em cada grau}}{N^\circ \text{ Total de folhas}} \times 100$$

$$\frac{\Sigma(\% \text{Folhas em cada grau} \times \text{Grau respectivo})}{100}$$

4.6 Avaliação Folha mais jovem doente (FMJD)

Por meio da metodologia de Stover, foi determinada a FMJD, a qual é a folha mais nova de cima para baixo com presença de sintomas característicos de Sigatoka Negra. Geralmente são os primeiros sintomas da doença (Grau 1 - até 10 manchas). Esta variável

permitiu determinar o número de folhas sem sintomatologia característica de Sigatoka Negra por planta. Avaliações mensais foram feitas neste parâmetro ao momento de coletar os dados de severidade.

4.7 Características de produtividade

Os rendimentos ou produtividade das plantas foi determinado pelas seguintes variáveis:

4.7.1 Peso dos cachos (kg) por planta

Para esta variável se coletaram os cachos de todas as plantas (Tratamento e Controle) e se pesaram numa balança para assim saber o peso de cacho/planta.

4.7.2 Número de frutos por planta

Depois de coletados e pesados os cachos, procedeu-se ao contagem dos frutos/cacho.

4.7.3 Tamanho dos frutos (Comprimento e diâmetro) por planta

Para se determinar o tamanho dos frutos, procedeu-se as medições de comprimento com fita métrica e de diâmetro por meio de um paquímetro. As medições foram estimadas em frutos da segunda e terceira penca do cacho e se calculou uma média destas por planta, tanto no Tratamento como no Controle.

4.8 Análise Estatística

A análise estatística foi feita por meio de *software* estatístico SAS (*Statistical Analysis System*, SAS Institute), versão 9.3. Submeteram-se os dados obtidos a análises de variância (ANOVA) segundo um desenho de blocos casualizados completos, analisando o tratamento com Cirurgia e o Controle (Testemunha). A análise das médias foi efetuada pelo Teste de Tukey ($P < 0.5$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Variabilidade dos isolados relacionados ao fungo *Mycosphaerella fijiensis* na área de estudo no Município de Angra dos Reis, Rio de Janeiro

5.1.1 Caracterização da estrutura reprodutiva

Quanto ao número de septos, a maioria dos isolados da fase anamórfica de *M. fijiensis* apresentaram de um a cinco septos, com predominância de três. Com relação à forma foram observados conídios cilíndricos a obclavados-cilíndricos, curvos, hialinos a oliváceos, produzidos em conidióforos retos a ondulados.

Castro *et al.* (2005), utilizaram as características morfológicas dos conidióforos de *P. fijiensis* para realizar a identificação do patógeno, encontrando esporos que mediram, no comprimento, 6,25 a 16,5 μm e 4 a 7 μm de largura, com formas predominantemente obclavadas a obclavadas-cilíndricas, retos ou curvos, hialinos a claro-oliváceos, com 1 a 10 septos, predominando 5 septos.

As características morfológicas deste trabalho são parecidas as características de *P. fijiensis* embora o diagnóstico para a Sigatoka Negra feito em base as características morfológicas pode ocasionar erros.

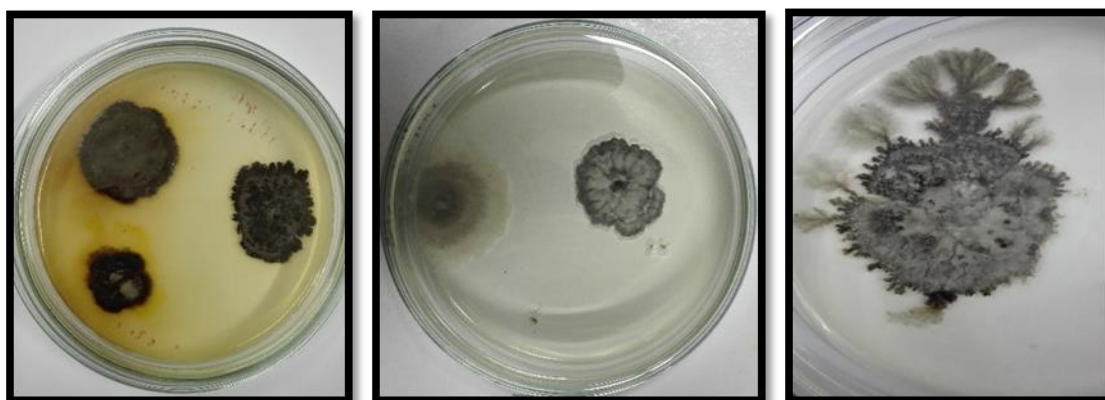


Figura 15. Aspectos de colônias de *M. fijiensis*, isoladas em BDA (Batata-dextrose-agar).

5.2 Detecção molecular dos isolados e amostras foliares relacionadas ao fungo *Mycosphaerella fijiensis* na área de estudo no Município de Angra dos Reis, Rio de Janeiro

5.2.1 Diagnóstico molecular por PCR

Com a metodologia empregada foi possível confirmar a presença de *M. fijiensis* nas amostras analisadas (folhas infectadas e fungo isolado). Após a eletroforese verificou-se a presença dos fragmentos de DNA amplificados com 500 pb correspondente a *M. fijiensis* (Figura 16). Este resultado indica que o diagnóstico molecular por PCR é de grande importância, podendo ser utilizado na indexação de mudas propagadas por cultura de tecido.

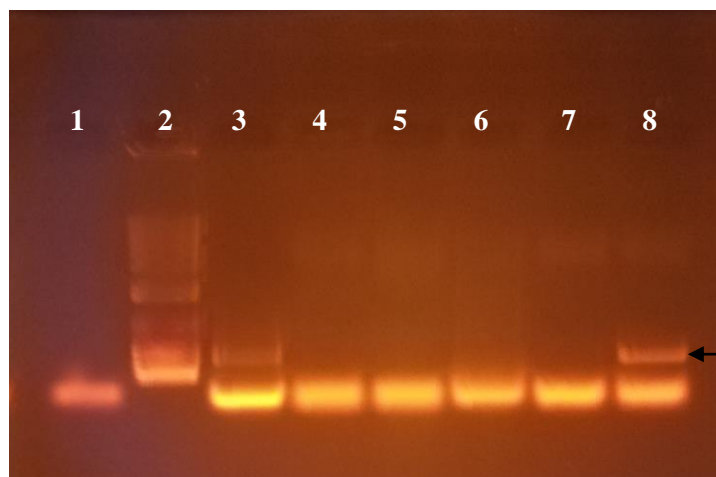


Figura 16. Eletroforese em gel de agarose contendo brometo de etídio (10 mg/ ml) a 1,3% em tampão TAE 1X a 88 volts por 20 minutos, de amostras de morangueiro: Controle negativo - (1); DNA *Ladder* (Thermo Fisher) (2), Controle positivo + (3), DNA de fungos de bananeira isolados (4, 5, 6, 7, 8) testadas com os *primers* ACTR/MFactF para *M. fijiensis*. *Amplicon* de 500 pb (Setas).

5.3 Controle do fungo *Mycosphaerella fijiensis*, agente causal da Sigatoka Negra no Município de Angra dos Reis, no Estado do Rio de Janeiro

5.3.1 Incidência e severidade do fungo *M. fijiensis*

No início do experimento, a incidência de *M. fijiensis* era de 100% na bananeira, já que todas as plantas apresentavam sintomas de Sigatoka Negra nas folhas. Desde o início até o final do ensaio a presença do fungo sempre esteve nas plantas, sendo menor a presença do fungo nas plantas tratadas com Cirurgia, a partir do primeiro mês de tratamento.

A severidade do fungo (MPI), como pode ser observado na Figura 17, teve os valores da MPI no início do ensaio de 2,7 para o tratamento (com Cirurgia) como para o Controle. Tal valor foi diminuindo consideravelmente mês a mês nas plantas que foram tratadas com Cirurgia, obtendo-se na última avaliação do ensaio (Floração das plantas) um valor de 1,3 para o tratamento (Cirurgia), conseguindo-se uma redução de 58% na severidade, sendo um indicativo muito bom para o desenvolvimento das plantas e do fruto. Enquanto que no controle o valor foi aumentando pouco a pouco, mantendo-se constante até chegar à floração com níveis de severidade muito elevados (3,1), obtendo-se um aumento de 14,8% da severidade quando comparado com o tratamento (Cirurgia). Cabe ressaltar, que evidentemente por meio do tratamento (Cirurgia) ao eliminar a parte foliar afetada pelo fungo, a severidade vai diminuir, sobre todo quando comparada com a testemunha, mais esta avaliação foi feita também com a finalidade de determinar se o valor da MPI era suficiente para considerar dita prática como adequada nesta área; confirmando com o resultado que as plantas com “Cirurgia” receberam um tratamento adequado para o controle desta doença.

Os resultados obtidos para esta variável foram altamente significativos, estando de acordo com o mencionado por Villalta & Guzmán (2006), os quais concluíram que com a prática de Cirurgia, a intervalos semanais, consegue-se reduzir a severidade da doença. Também, Merchán & Chavariaga (1994); demonstraram que com a prática de Cirurgia, a Sigatoka Negra pode-se manter em níveis baixos de infecção. A desfolha e o acúmulo no solo das folhas eliminadas reduzem significativamente a área foliar exposta à descarga de

ascósporos e diminui até 80% o potencial de produção de inóculo e a severidade de Sigatoka Negra (OROZCO-SANTOS *et al.*, 2002). N'Guessan *et al.* (2015) Concluíram que com a Cirurgia conseguisse reduzir significativamente a quantidade de inóculo do fungo.

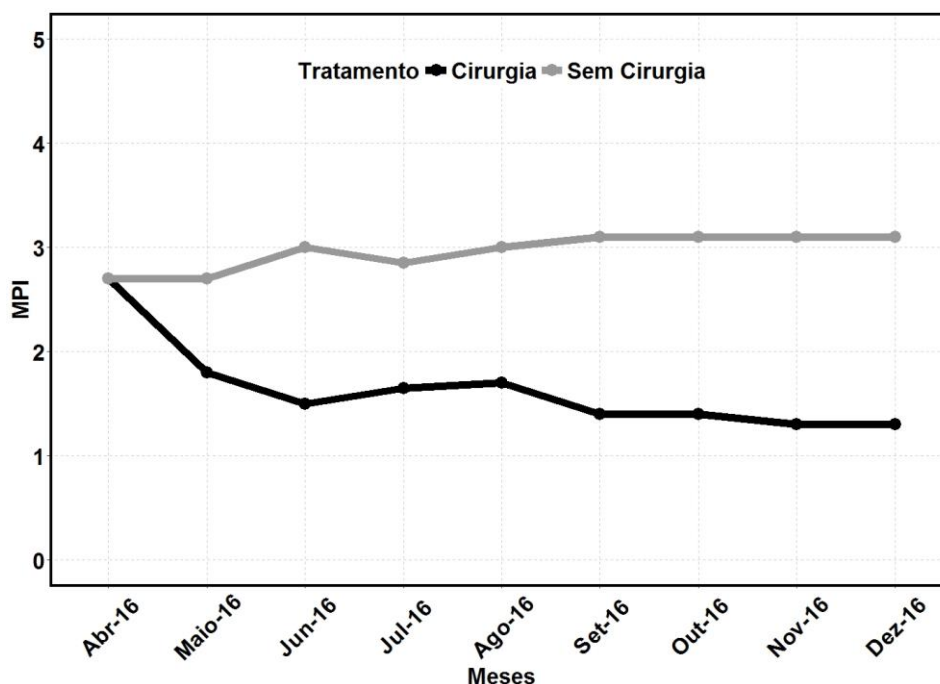


Figura 17. Efeito dos tratamentos (Cirurgia x Controle) sobre a Severidade - Média Ponderada da Infecção (MPI) de Sigatoka Negra nas plantas de bananeira 'Grande Naine' (*Musa acuminata* - AAA) nos meses de abril a dezembro. Angra dos Reis, RJ. 2016.

5.3.2 Folha mais jovem doente

Nesta variável (FMJD) foi observado que as diferenças entre os tratamentos foram significativas (Figura 18), já que a FMJD no tratamento foi aumentando a medida que era feita a Cirurgia, conseguindo de 4 - 5 folhas novas e assintomáticas por planta, portanto, as plantas tratadas apresentavam mais área foliar sadia, obtendo assim mais folhas funcionais, fazendo um maior processo fotossintético, o qual foi benéfico para o desenvolvimento dos cachos e dos frutos.

Enquanto que no Controle verificou-se a presença do fungo a partir da folha número 2, ficando assim com menor número e área foliar sadia, aumentando a severidade e a disseminação do fungo nas plantas, concordando com pesquisas da FAO, as quais concluíram que a maior quantidade de folhas jovens sem sintomas do fungo, a presença da doença vai ser muito menor em afetar a formação do cacho (LEHMANN-DANZINGER, 1984).

As diferenças entre tratamento, com e sem Cirurgia, foram muito visíveis já que foi possível obter mais do que 60% de área foliar sadia com o tratamento com Cirurgia, enquanto que no Controle, a porcentagem de área foliar sadia foi só de 20% aproximadamente.

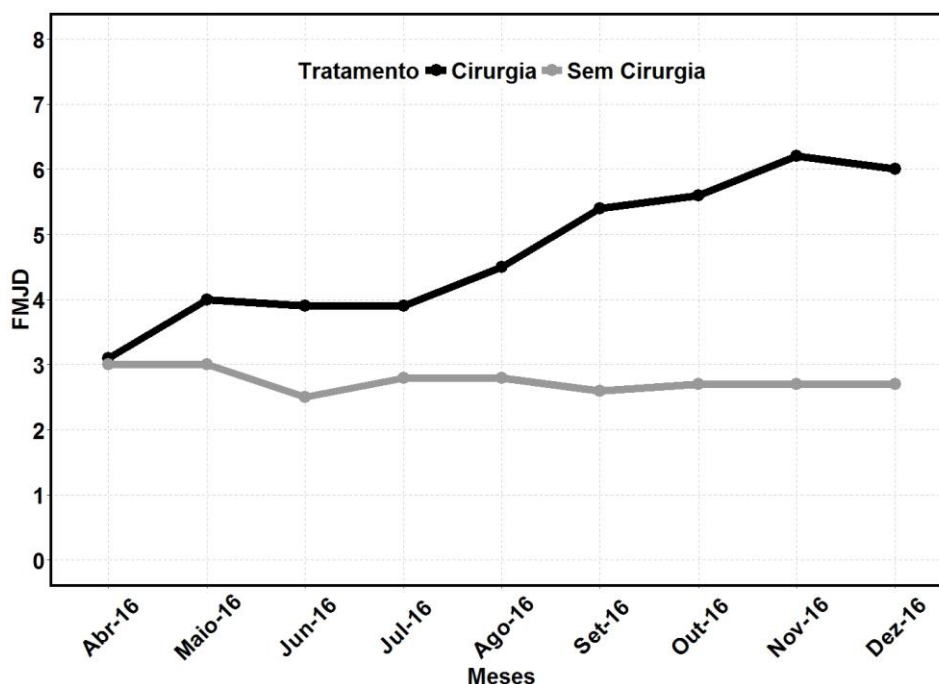


Figura 18. Efeito dos tratamentos (Cirurgia x Controle) sobre a folha mais jovem doente (FMJD) de bananeira ‘Grande Naine’ (*Musa acuminata* - AAA) infectadas com Sigatoka Negra. Angra dos Reis, RJ. 2016.

5.3.3 Características de produtividade

5.3.3.1 Peso dos cachos – Número e tamanho dos frutos (Comprimento e diâmetro)

De acordo com as análises de variância, as variáveis de peso do cacho, número e tamanho dos frutos (Comprimento e diâmetro) indicaram diferenças estatísticas significativas entre o tratamento e o controle; $Pr > F = 0,0001$ (Tabela 4). As diferenças entre o tratamento e o controle foram altamente visíveis.

5.3.3.1.1 Peso dos cachos

Com relação ao peso dos cachos foi observada diferenças significativas, já que a média das plantas tratadas foi de $13,33 \text{ kg planta}^{-1}$ enquanto que as plantas sem tratamento foi de $3,32 \text{ kg planta}^{-1}$ (Figura 19-I).

Neste caso a cirurgia gerou um aumento na produção de até 300%, provavelmente, devido a maior área foliar disponível nas plantas, para desenvolver e realizar todos seus processos fisiológicos, de captação de luz, energia e fotossíntese, enquanto que no controle houve uma redução no cacho de 75% aproximadamente, devido à menor área foliar para a fotossíntese, sendo isto muito importante para o desenvolvimento dos cachos, concordando com o obtido por Rodríguez & Cayón (2008), os quais concluíram que à medida que aumenta a severidade dos sintomas da doença, diminui a fotossíntese nas folhas, afetando o desenvolvimento, peso e tamanho dos cachos.

5.3.3.1.2 Número de frutos

Obtiveram-se diferenças significativas, a média de número de frutos com tratamento foi de 104,66 por cacho; enquanto que a média do Controle foi de 36,50 por cacho (Figura 19-II), obtendo-se no tratamento com Cirurgia um aumento de 187% de frutos a mais quando comparado com o Controle.

5.3.3.1.3 Tamanho dos frutos (Comprimento e diâmetro)

Para o tamanho dos frutos (centímetros), as diferenças foram significativas; para o comprimento dos frutos a média para o tratamento foi de 15 cm fruto⁻¹; enquanto que para o Controle foi de 11,44 cm fruto⁻¹ (Figura 19-III), conseguindo um aumento de 31% no comprimento dos frutos das plantas tratadas.

Para o diâmetro o tratamento foi de 3,89 cm fruto⁻¹ e para o controle foi de 3,28 cm fruto⁻¹ (Figura 19-IV), aumentando em 18,6% esta característica no tratamento com Cirurgia.

As características de produtividade (Peso dos cachos, número e tamanho de frutos) no experimento, concordam com o obtido em bananeira 'Figo' (*Musa AAB simmonds*) por Barrera *et al.* (2008), os quais concluíram que as características do cacho são afetadas significativamente pela exposição das folhas funcionais, e para um melhor desenvolvimento e preenchimento do fruto, a planta deve ter no mínimo seis folhas funcionas. Estes mesmos autores confirmaram que o desenvolvimento dos frutos é produto do fluxo de carboidratos proveniente da fotossíntese das folhas.

Deve ser levado em conta que as folhas são os órgãos envolvidos diretamente com o preenchimento dos frutos, e são as que produzem os fotoassimilados que posteriormente são translocados ao cacho (MARTIN e CHARPENTLER, 1963).

De acordo com Silva *et al.* (2000) o maior número de folhas na emissão da inflorescência sugere que o cacho poderá ter melhores condições para o seu desenvolvimento, evidenciando esta afirmação nos resultados obtidos nos rendimentos deste trabalho.

Apesar de se ter diferenças significativas em todas as variáveis do rendimento, os resultados foram mais marcantes no peso dos cachos e número dos frutos.

Nas variáveis do tamanho não foram tão marcantes talvez porque durante o ensaio não foram feitos manejos como a prática de desbaste de pencas, concordando com Rodríguez *et al.* (1988), onde tais autores estabeleceram que a prática de desbaste de pencas se entende como a eliminação de várias mãos ou pencas, para que a matéria seca não utilizável comercialmente se distribua entre as mãos ou pencas que permanecem no cacho, que devem aumentar seu tamanho.

Tabela 4. Significância dos tratamentos para as variáveis avaliadas.

	Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
Peso	Tratamento	1	25	315.61	<.0001
Frutos	Tratamento	1	25	113.33	<.0001
Comprimento	Tratamento	1	26	57.4	<.0001
Diâmetro	Tratamento	1	26	31.15	<.0001

Num DF = Graus de Liberdade; Den DF=Soma de quadrados medios; F Value = F calculado
*Diferenças significativas - sim Pr>F = 0,0001.

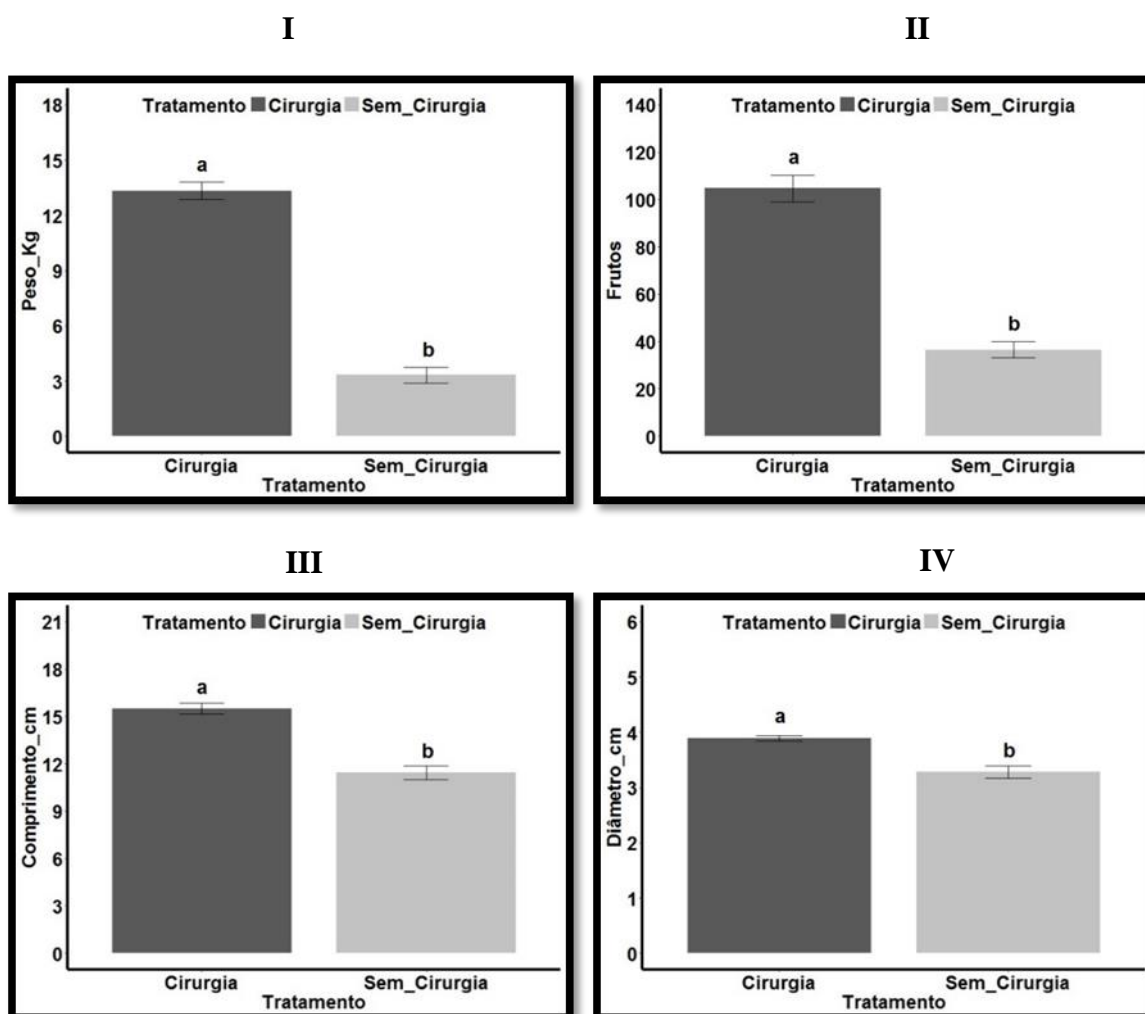


Figura 19. Valores médios dos tratamentos (Cirurgia x Controle) sobre peso (I), número (II), comprimento (III) e diâmetro (IV) dos frutos de bananeiras ‘Grand Naine’ (*Musa acuminata* - AAA) infectadas com Sigatoka Negra. Angra dos Reis, RJ. 2016.

*Médias com letras diferentes = Tratamentos (Cirurgia – Sem cirurgia) com diferenças estatísticas significativas segundo a faixa de comparação múltipla de Tukey ao 5% de probabilidade ($P < 0.5$).

6 CONCLUSÕES

A amplificação de *amplicon* pelo Teste de PCR empregando os *primers* específicos para *Mycosphaerella fijiensis*, constitui uma ferramenta importante para estudos epidemiológicos que permite o diagnóstico inicial de infecções, pois permite determinar a presença de inóculo em estádios assintomáticos das doenças.

Diante das condições experimentais pode-se concluir que a prática de Cirurgia ajudou na diminuição da severidade do fungo, reduzindo esta variável em até 58% quando comparada com o controle, obtendo também um maior número de folhas funcionais sem a presença de sintomas ou danos de Sigatoka Negra e, portanto, conseguindo um maior aproveitamento da área foliar para os processos fisiológicos de desenvolvimento dos cachos.

As características de produtividade para as variáveis, peso, número e tamanho dos frutos, foram muito afetadas devido ao alto valor da severidade em plantas que não receberam o tratamento, reduzindo em até 75% o peso do racimo, enquanto que em plantas com tratamento (Cirurgia) a produtividade foi muito mais elevada, gerando 300% a mais, quando comparado com o controle. Com esta prática pode-se diminuir a fonte de inóculo do fungo *M. fijiensis* causador da Sigatoka Negra, e conseguindo produzir bananas de boa qualidade para o mercado interno nas condições do Rio de Janeiro.

Demostrou-se nesta pesquisa que para bananeiras com infecção desta doença, pode-se obter bons resultados controlando o agente da Sigatoka Negra, através de Cirurgia.

Cabe ressaltar que para obter uma melhor produção nesta cultivar de bananeira é recomendável fazer um manejo integrado e práticas agronômicas, desde a compra de mudas indexadas, estabelecimento da cultura até a colheita aliado a Cirurgia em áreas com a Sigatoka Negra de forma a diminuir os danos desta doença e contribuir com o aumento na produtividade.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARRERA, J., CAYÓN, G., ROBLES, J. Influencia de la exposición de las hojas y el epicarpio de frutos sobre el desarrollo y la calidad del racimo de plátano 'Hartón' (*Musa* AAB Simmonds). *Agronomía Colombiana*. Córdoba, Colombia. Vol. 27, Núm. 1. 2008.

BORBOREMA, M.D. Comercialização e mercado bananeiro atual e perspectivas. In: Matos, A.P. de, Meissner Filho, P.E. (eds.) *Anais do Simpósio Brasileiro sobre a Bananicultura e Workshop do Genoma Musa*, 5 e 1, Paracatu: Fitossanidade e o futuro da bananicultura, Cruz das Almas: Nova Civilização, p. 48-56. 2003.

BRIOSO, P.S.T., GASPAROTTO, L. Não ocorrência de Sigatoka Negra de bananeiras oriundas de São Paulo, Brasil. In: 45º Congresso Brasileiro de Fitopatologia. n. 287. 2012. Manaus, AM. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/932887/1/CongFito287.pdf>. Acesso (18/10/2017)

BURT, P.J.A.; RUTTER, J.; GONZALES, H. Short-distance wind dispersal of the fungal pathogens causing Sigatoka diseases in banana and plantain. *Plant Pathology*, Oxford, v.46, n.6, p.451-458, 1997.

CARDOSO, J.E., VIANA, F.M.P (eds.) *Doenças de Fruteiras Tropicais de Interesse Agroindustrial*. Embrapa Informações Tecnológica, Brasília, DF, 687p. 2003.

CAVALCANTE, M.J.B. Distribuição e impacto da sigatoka negra na bananicultura do Estado do Acre. *Fitopatologia Brasileira*, v. 29, n.5, p. 544-547, 2004.

CAVALCANTE, M.J.B.; GONDIM, T.M.; CORDEIRO, Z.J.M. Ocorrência da Sigatoka-negra em dez municípios do estado do Acre. Porto Velho: EMBRAPA ACRE. 2p. (Comunicado Técnico, 107). 1999.

CERQUEIRA, R.C.; SILVA, S. de O.; MEDINA, V.M. Características pós-colheita de frutos de genótipos de bananeira (*Musa* spp.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v.34, n.3, p.654-657, 2002.

CHUANG, T.Y. Chemical control of banana leaf spot caused by *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*. *Plant Protection Bulletin*, Taiwan, v.23, n.1, p.87-94, 1981.

CORDEIRO, Z.J.M.; BORGES, A.L.; FANCELLI, M. et al. Cultivo da banana para o estado do Amazonas. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura. 2003.

CORDEIRO, Z.J.M.; SILVA, S.O.; PEREIRA, J.C.R. et al. Sigatoka negra no Brasil. *Informativo SBF*, Brasília, v.17, n.2, p.8-10. 1998.

CORDEIRO, Z.J.M.; SHEPHERD, K.; DANTAS, J.L.L. Black Sigatoka: impact and control strategies. *Acta Horticulturae*, Vitória, n.370, p.133-137. 1995.

EMBRAPA. Banana Caipira: variedade resistente à Sigatoka negra. Cruz das Almas: EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, 1999a.

EMBRAPA. Banana ThapMaeo: variedade resistente à Sigatoka-negra. Cruz das Almas: EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, 1999b.

FAO: Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (2016) “FAOSTAT” [Base de dados on line] Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC> Acesso em 18/12/2017.

FIRJAN: Federação das Indústrias do Estado do Rio de Janeiro. Estudo de viabilidade de um pólo agroindustrial para a região Norte Fluminense. Brasília-DF: CAMPO, 143p. 1998.

GASAPROTTO, L., PEREIRA, J.C., HANADA, R.E., MONTARROYOS, A. Sigatoka-negra da bananeira. Métodos de controle. Manaus. Embrapa Amazonia Occidental. 2006. 88 – 123 p.

GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J.C.R.; TRINDADE, D.R. Situação atual da Sigatoka negra da bananeira. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.26 (suplemento), p.449. 2001.

GAUHL, F. Epidemiology and ecology of black sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis*) on plantain and banana (*Musa spp.*) in Costa Rica, Central America. The International Network for the Improvement of Banana and Plantain. Montpellier, France. 1994.

GONZÁLEZ, A. M.; GÓMEZ, C.; ARISTIZÁBAL, M. Características de crecimiento y producción de híbridos FHIA en Colombia. InfoMusa, Montpellier, v.12, n.1, p.46-49, 2003.

GUZMÁN, M.; ROMERO, R. Determinación del efecto antiesporulante de diferentes compuestos sobre *Mycosphaerella fijiensis*. p. 46. In: Informe anual. Departamento de Investigación y Diversificación Agrícola CORBANA (Corporación Bananera Nacional, CR). San José, Costa Rica. 1994

GUZMÁN, M.; CALVO, C. M.; OVANDO, R.; VARGAS, R. Evaluación preliminar del efecto de la aplicación de bacterias, melaza y urea sobre la degradación de hojas de banano y la esporulación de sigatoka negra en hojas a nivel de suelo. pp. 54-56. In: Informe anual. Dirección de Investigaciones Agrícolas CORBANA (Corporación Bananera Nacional, CR). San José, Costa Rica. 2004.

HANADA, R.E.; GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J.C.R. Esporulação de *Mycosphaerella fijiensis* em diferentes meios de cultura. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.27, n.2, p.170-173. 2002a.

HANADA, R.E.; GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J.C.R. Sobrevivência de conídios de *Mycosphaerella fijiensis* em diferentes materiais. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.27, n.4, p.408-411. 2002b.

IBGE. Produção Agrícola Municipal. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 07/07/2016

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em 23/02/16.

IBRAF: Instituto Brasileiro de Frutas. Disponível em: <http://www.ibraf.org.br/x-es/f-esta.html>. Acesso em 12/06/17.

INMET: Instituto Nacional de Meteorologia. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=tempo2/meteograma&code=3300100>. Acesso em 25/05/2016.

LEHMANN-DANZINGER, H. Planificación de estudios epidemiológicos para prevención y control de Sigatoka Negra en la subregión andina FAO. Roma. 106 p.1984.

JACOME, L.H.; SCHUH, W. Effect of temperature on growth and conidial production in vitro, and comparison of infection and aggressiveness in vivo among isolates of *Mycosphaerellafijiensis* var. *difformis*. Tropical Agriculture, Trinidad, v.70, n.1, p.51-59. 1993a.

JACOME, L.H.; SCHUH, W. Spore production and artificial inoculation technique for *Mycosphaerellafijiensis* var. *difformis*. Tropical Agriculture, Trinidad, v.70, n.1, p.30-38. 1993b.

JACOME, L.H.; SCHUH, W. Effects of leaf wetness duration and temperature of development of black Sigatoka disease on banana infected by *Mycosphaerellafijiensis* var. *difformis*. Phytopathology, v. 82, n. 5, p. 515 – 520, 1992.

JACOME, L.H.; SCHUH, W.; STEVENSON, R. Effect of temperature and relative humidity on germination and germ tube development of *Mycosphaerellafijiensis* var. *difformis*. Phytopathology, Saint Paul, v.81, n.12, p.1480-1485. 1991.

JANSSON, R.K.; RABATIN, S. Curative and residual efficacy of injection applications of avermectins for control of plant-parasitic nematodes on banana. J. Nematol., v.29, n.4, p.695-702, 1997.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.LIMA, J.A.A., GONÇALVES, M.F. Identificação sorológica do vírus do mosaico do pepino em plantações de bananeira no Ceará. Fitopatol. Bras. v. 13, p. 26, 1988.

LIMA, L. C.; DIAS, M. S. C.; CASTRO, M. V. de; RIBEIRO JÚNIOR, P. M.; SILVA, E. de B. Controle da antracnose e qualidade de mangas (*Mangifera indica* L.) cv. haden, após tratamento hidrotérmico e armazenamento refrigerado em atmosfera modificada. Ciência e Agrotecnologia, v.31, n.2, p. 298-304, mar./ abr., 2007.

MANUAL DE FITOPATOLOGIA: Doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Ceres, v.2, 663p., 2005.

MANUAL DE FITOPATOLOGIA. São Paulo: Agronômica Ceres. v. 2: Doenças das plantas cultivadas, Cap. 13, p. 112-136. 1997.

MARTINEZ, J. A. O Moko da bananeira no Brasil e no mundo. In PEREIRA, L.V.;ALVES, E.J. (Org.). Moko ou murcha bacteriana da bananeira. Cruz das Almas: EMBRAPA – CNPMF, p.15-18. (EMBRAPA – CNPMF Documento, 6). 1981.

MARÍN, D. H.; ROMERO R. A.; GUZMÁN, M.; SUTTON, T. B. Black sigatoka: anincreasingthreatto banana cultivation. *PlantDisease* 87:208-222. 2003

MERCHÁN V. M.; CHAVARRIAGA, W. M. Alternativas de manejo de Sigatoka negra en plátano Hartón (*Musa* AAB). *Memorias de la XI Reunión ACORBAT* 1994. pp. 325-335. 1994.

MONTEIRO, L. O fantasma negro. *Safra, Goiânia*, v.2, n.20, p.9-10, 2001. MOREIRA, R. IAC 2001 – um 'Nanicão' resistente à sigatoka amarela é resistente também à sigatoka-negra. *Agropecuária Catarinense, Florianópolis*, v.15, n.2, p.18-19, 2002.

MOREIRA, R. IAC 2001 – um 'Nanicão' resistente à sigatokaamarela é resistente também à sigatoka-negra. *Agropecuária Catarinense, Florianópolis*, v.15, n.2, p.18-19, 2002.

MOURICHON, X.; CARLIER, J.; FOURÉ, E. Sigatoka leaf spot diseases. Montpellier: INIBAP. 1997. *Musa Disease Fact Sheet*, 8. Disponível em: <http://www.cgiar.org/opgri/inibap>.

N'GUESSAN, H.; HERNANDEZ, F.; CAMARA, B.; KONE, D. 2015. Comparison of Two Defoliation Methods in the Control of Black Sigatoka Disease (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) in Industrial Banana Plantations in Côte d'Ivoire. *International Journal of Agriculture Innovations and Research* 4(1):110-114. http://ijair.org/index.php?option=com_jresearch&view=publication&task=show&id=587&Itemid=103

NOLASCO, C. de A.; SALOMÃO, L. C. C.; CECON, P. R.; BRUCKNER, C. H.; ROCHA, A. *Qualidadepóscolheita de banana 'Prata' tratada por hidrotermia. Ciência e Agrotecnologia*, v.32, n.5, p. 1575-1581, set./out., 2008.

OROZCO-SANTOS, M.; FARÍAS-LARIOS, J.; MANZO-SÁNCHEZ, G.; GUZMÁN-GONZÁLEZ, S. Manejo integrado de la Sigatoka negra (*Mycosphaerellafijiensis*) del banano en el trópico seco de México. *Memorias de la XV Reunión ACORBAT* 2002. Cartagena de Indias, Colombia. pp. 119-124. 2002.

PEREIRA, L.V.; CORDEIRO, Z.J.M.; FIGUEIRA, A. dos R. ET al. Doenças da bananeira. *Informe Agropecuário, Belo Horizonte*, v.20, n.196, p.37-47, 1999.

PEREIRA, J.C.R.; GASPAROTTO, L.; COELHO, A.F. da S. ET al. Ocorrência da Sigatoka negra no Brasil. *Fitopatologia Brasileira, Brasília*, v.23 (suplemento), p.295. 1998a.

PEREIRA, J.C.R.; GASPAROTTO, L.; COELHO, A.F.S. Ocorrência de Sigatoka negra no estado do Amazonas. *Informativo SBF, Brasília*, v.17, n.2, p.11-13. 1998b.

PLOETZ, R. La más importante enfermedad de la fruta más importante; la Sigatoka negra del banano. 1999. Disponible en: http://www.iicasaninet.net/pub/sanveg/html/aps/bananos/sigatoka_negra.htm. Acceso em: 07 abr. 2003.

PORRAS, A.; PEREZ, L. The role of temperature in the growth of the germ tubes of ascospores of *Mycosphaerella* spp., responsible for leaf spot disease of banana. *Infomusa*, v. 6, n. 2, p. 27-32, 1997.

RANGEL, A.; PENTEADO, L.A.C.; TONET, R.M. Cultura da banana. 2.ed. Campinas: CATI, Boletim Técnico, 234. 91p. 2002

ROBBS, C.F. Caracterização de raças estirpes de *Pseudomonas solanacearum* no território nacional e sugestões para seu controle. IN: PEREIRA, L.V., ALVES, E.J. (Org.). Moko ou murcha bacteriana da bananeira. Cruz das Almas: EMBRAPA – CNPMF, p.19-23. (EMBRAPA – CNPMF Documento, 6). 1981.

RODRÍGUEZ J.A., IRIZARRY H., RIVERA E. Efecto de la poda de manos en el rendimiento y calidad de las frutas del plátano (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana*, AAB). In ACORBAT. Medellín, Colombia, p. 537- 541. 1988.

ROMERO, R.A.; SUTTON, T.B. Characterization of Benomyl resistance in *Mycosphaerella fijiensis*, cause of black Sigatoka of banana, in Costa Rica. *Plant Disease*, Saint Paul, v.82, n.8, p.931-934. 1998.

ROMERO, R.A.; SUTTON, T.B. Sensitivity of *Mycosphaerella fijiensis*, causal agent of black Sigatoka of banana, to Propiconazole. *Phytopathology*, Saint Paul, v.87, n.1, p.96- 100. 1997.

SANDOVAL, G. R. Programas de manejo de resistência a fungicidas sistemicos usados en el control químico de la sigatoka negra In: CURSO DE MANEJO INTEGRADO DE SIGATOKA NEGRA, 1., 1998, Manzanillo. Memorias. SAGAR: INIBAP, p. 60 – 76. 1998.

SILVA, S. Pacovan Ken – nova cultivar de bananeira resistente à sigatoka-negra. *Agropecuária Catarinense*, Florianópolis, v.15, n.3, p.15-16, 2002.

STOVER, R.H.; SIMMONDS, N.W. Bananas. 3.ed. New York: Longman Scientific & Technical. 468p. 1987.

STOVER, R.H. The effect of temperature on ascospore germ tube growth of *Mycosphaerella musicola* and *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*. *Fruits*, Paris, v.38, n.9, p.625-628. 1983.

STOVER, R.H. Sigatoka leaf spots of banana and plantains. *Plant Disease*, Saint Paul, v.64, n.8, p.750-756, 1980.

STOVER, R.H. Distribution and cultural characteristics of the pathogens causing banana leaf spot. *Tropical Agriculture*, Trinidad, v.53, n.2, p.111-114. 1976.

TOKESHI, H.; DUARTE, M.L.R. Moko da bananeira no território Federal do Amapá. Summa Phytopathologica. Piracicaba, v. 2, n. 3, p. 224-229, jul./set. 1976.

TRINDADE, D.R.; POLTRONIERI, I.S.; ALBUQUERQUE, F.C.; BENCHIMOL, R.I.; AMORIM, A.M. Occurrence of cucumber mosaic virus on banana in the State of Pará, Brazil. Fitopatol. Bras. v. 23, p. 185, 1998.

VARGAS, V.M.M.; Prevención y manejo de lasigatoka negra. Caldas, Colômbia: ICA. 30 p. 1996.

VILLALTA R.; GUZMÁN, M. Capacidad de esporulación de *Mycosphaerellafijiensis* en tejido foliar de banano depositado en el suelo y efecto antiesporulante de la urea. In: 1er Congreso Científico Técnico Bananero Nacional. Pococí, Limón, Costa Rica. Resumen. p. 14. 2005.

WAITE, C.W. Banana diseases, including plantains and abaca. London: LongmansGreen. 648p. 1961.

WASHINGTON, J.R.; CRUZ, J.; FAJARDO, M. Detection of chlorothalonil in dew water following aerial spray application and its role in the control of black Sigatoka in banana. Plant Disease, Saint Paul, v.82, n.11, p.1191-1198. 1998a.

WASHINGTON, J.R.; CRUZ, J. LÓPEZ, F. et al. M. Infection studies of *Mycosphaerellafijiensis* on banana and the control of black Sigatoka with chlorothalonil. Plant Disease, Saint Paul, v.82, n.11, p.1185-1190. 1998b.

ZADOKS, J. C.; SCHEIN, R. D. Epidemiology and plant disease management. New York: Oxford University Press, p. 472. 1979.

8 ANEXOS

Figura 20 (a, b, c, d). Estado da bananeira cv. Grande Naine (*Musa acuminata* – AAA) no momento do levantamento. Angra dos Reis, RJ. 2016.



Figura 21 (a, b, c, d, e). Estado da bananeira cv. Grande Naine (*Musa acuminata* – AAA) cinco meses após o tratamento com Cirurgia. Angra dos Reis, RJ. 2016.

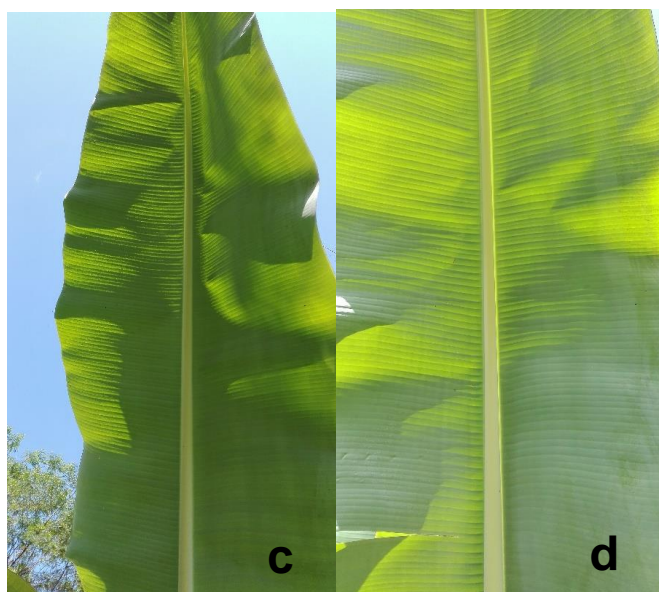


Figura 22 (a, b, c). Cachos em formação da bananeira cv. Grande Naine (*Musa acuminata* – AAA) de plantas sem tratamento de Cirurgia (Testemunha). Angra dos Reis, RJ. 2016.



Figura 23 (a, b, c). Cachos em formação da bananeira cv. Grande Naine (*Musa acuminata* – AAA) com tratamento de Cirurgia. Angra dos Reis, RJ. 2016.



Figura 24 (a, b, c). Cachos coletados de plantas de bananeira cv. Grande Naine (*Musa acuminata* – AAA) sem tratamento de Cirurgia (Testemunha). Angra dos Reis, RJ. 2017.

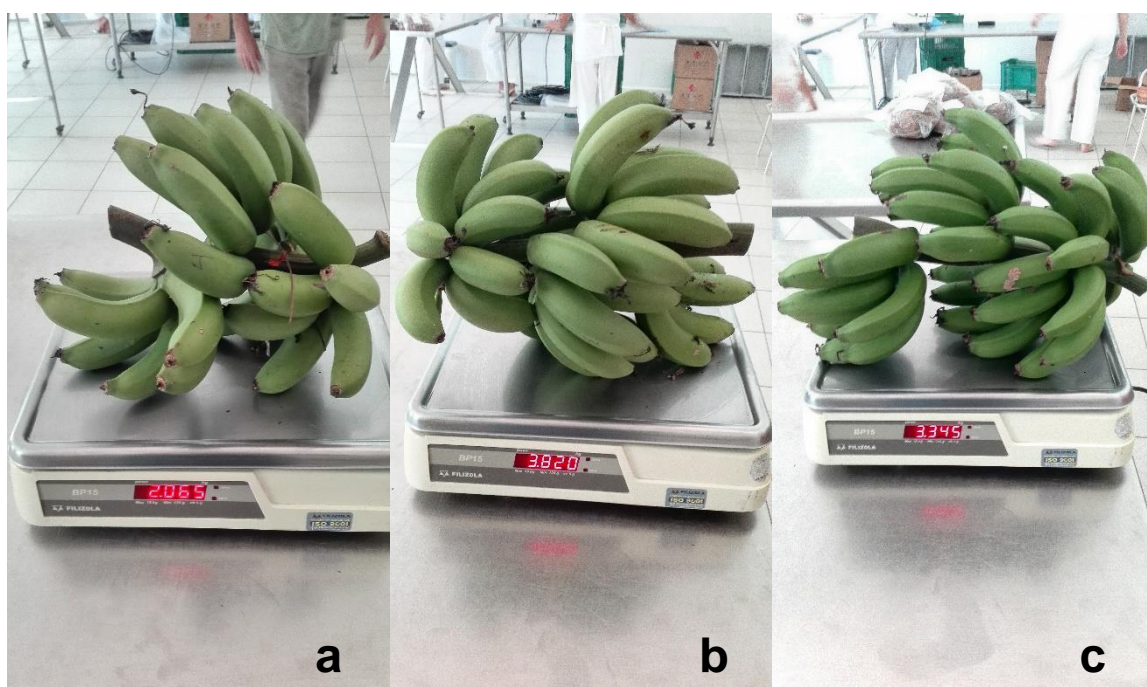


Figura 25 (a, b, c). Cachos coletados de plantas de bananeira cv. Grande Naine (*Musa acuminata* – AAA) com tratamento de Cirurgia. Angra dos Reis, RJ. 2017.



Tabela 5. Dados coletados na avaliação de severidade (MPI) de plantas de bananeira cv. Grande Naine (*Musa acuminata* – AAA) com tratamento de Cirurgia e sem tratamento. Angra dos Reis, RJ. 2016.

Mês	MPI (Tratamento)	MPI (Testemunha)
Abril	2,7	2,7
Mai	1,8	2,7
Junho	1,5	3
Julho	1,65	2,85
Agosto	1,7	3
Setembro	1,4	3,1
Outubro	1,4	3,1
Novembro	1,3	3,1
Dezembro	1,3	3,1

Tabela 6. Dados coletados na avaliação de folha mais jovem doente (FMJD) de plantas de bananeira cv. Grande Naine (*Musa acuminata* – AAA) com tratamento de Cirurgia e sem tratamento. Angra dos Reis, RJ. 2016.

Mês	FMJD (Tratamento)	FMJD (Testemunha)
Abril	3,1	3
Mai	4	3
Junho	3,9	2,5
Julho	3,9	2,8
Agosto	4,5	2,8
Setembro	5,4	2,6
Outubro	5,6	2,7
Novembro	6,2	2,7
Dezembro	6	2,7

Tabela 7. Dados coletados na avaliação de produtividade de plantas com tratamento de Cirurgia e sem tratamento. Angra dos Reis, RJ. 2017.

<i>Cultivar</i>	<i>Repetições</i>	<i>Tratamento</i>	<i>Planta</i>	<i>Peso_kg</i>	<i>N°_Frutos</i>	<i>Comprim_cm</i>	<i>Diametro_cm</i>
<i>Grande Naine</i>	1	Cirurgia	1	11,50	95,00	14,20	3,80
<i>Grande Naine</i>	1	Cirurgia	2	12,00	98,00	14,00	3,80
<i>Grande Naine</i>	1	Cirurgia	3	11,00	90,00	14,30	3,80
<i>Grande Naine</i>	1	Cirurgia	4	13,00	110,00	15,00	3,80
<i>Grande Naine</i>	1	Cirurgia	5	11,50	74,00	18,00	3,80
<i>Grande Naine</i>	2	Cirurgia	6	13,20	108,00	15,10	3,80
<i>Grande Naine</i>	2	Cirurgia	7	25,10	210,00	17,20	3,90
<i>Grande Naine</i>	2	Cirurgia	8	15,10	107,00	17,50	4,30
<i>Grande Naine</i>	2	Cirurgia	9	14,00	104,00	14,80	4,20
<i>Grande Naine</i>	2	Cirurgia	10	13,90	102,00	14,80	4,20
<i>Grande Naine</i>	3	Cirurgia	11	14,50	126,00	16,50	3,80
<i>Grande Naine</i>	3	Cirurgia	12	15,10	143,00	16,10	3,90
<i>Grande Naine</i>	3	Cirurgia	13	14,70	110,00	14,60	3,80
<i>Grande Naine</i>	3	Cirurgia	14	16,20	140,00	15,90	3,90
<i>Grande Naine</i>	3	Cirurgia	15	10,50	71,00	14,50	3,60
<i>Grande Naine</i>	1	Testemunha	1	0,90	23,00	8,60	2,60
<i>Grande Naine</i>	1	Testemunha	2	1,00	26,00	9,10	2,60
<i>Grande Naine</i>	1	Testemunha	3	3,80	44,00	12,40	3,40
<i>Grande Naine</i>	1	Testemunha	4	2,10	29,00	10,60	3,10
<i>Grande Naine</i>	1	Testemunha	5	3,90	47,00	12,20	3,50
<i>Grande Naine</i>	2	Testemunha	6	3,30	48,00	11,40	3,20
<i>Grande Naine</i>	2	Testemunha	7	3,70	30,00	12,30	3,60
<i>Grande Naine</i>	2	Testemunha	8	5,90	49,00	13,60	3,80
<i>Grande Naine</i>	2	Testemunha	9	3,10	30,00	11,60	3,50
<i>Grande Naine</i>	2	Testemunha	10	3,30	45,00	12,10	3,30
<i>Grande Naine</i>	3	Testemunha	11	5,30	55,00	13,50	3,70
<i>Grande Naine</i>	3	Testemunha	12	3,20	38,00	11,30	3,30
<i>Grande Naine</i>	3	Testemunha	13	3,30	27,00	10,50	3,80
<i>Grande Naine</i>	3	Testemunha	14	0,70	14,00	8,70	2,50
<i>Grande Naine</i>	3	Testemunha	15	6,40	60,00	13,80	3,30