Dados do Plano de Trabalho							
	Fontes de inóculo da podridão da coroa na pós-colheita da banana em unidades de beneficiamento do Cariri cearense						
Modalidade de bolsa solicitada:	PIBIC						
	Podridão da coroa da banana no Cariri cearense: levantamento, epidemiologia, fungos causadores e sensibilidade à fungicidas						

#### 1. OBJETIVOS

### 1.1 Objetivo geral

Monitorar as fontes de inóculo da podridão da coroa na pós-colheita da banana em unidades de beneficiamento do Cariri cearense.

### 1.2 Objetivos específicos

- Coletar amostras em pontos do processamento pós-colheita da banana;
- Obter isolados fúngicos de pontos do processamento pós-colheita da banana;
- Avaliar a patogenicidade de isolados fúngicos obtidos de pontos do processamento pós-colheita de banana;
- Caracterizar os isolados fúngicos obtidos de pontos do processamento pós-colheita da banana.

### 2. METODOLOGIA

## 2.1 Coleta de amostras em pontos do processamento pós-colheita da banana do Cariri cearense

O estudo será realizado nas unidades de beneficiamento de três empresas produtoras de banana (cv. Prata) localizadas na região do Cariri cearense. Serão coletadas amostras em três pontos do processamento pós-colheita da banana: nas facas curvas utilizadas no despencamento, no primeiro tanque de lavagem e no segundo tanque de lavagem. A amostragem das facas utilizadas no despencamento será realizada pela lavagem com uma solução estéril de Tween 20 a 0,2% e recuperação de 100 mL da suspensão de lavagem num frasco esterilizado. As amostras de água dos tanques de lavagem (100 mL cada) serão retiradas em cinco pontos de cada tanque com um frasco esterilizado e posteriormente misturadas para constituirem uma amostra composta, com volume final de amostragem de 100 mL/tanque. Serão coletadas três replicatas de cada amostra. As amostragens serão realizadas trimestralmente (4 vezes/ano), totalizando 36 amostras das facas utilizadas no despencamento e 72 amostras dos tanques de lavagem.

# 2.2 Obtenção de isolados fúngicos de pontos do processamento pós-colheita da banana do Cariri cearense

Após a coleta, as amostras serão etiquetadas e transferidas para o Laboratório de Fitopatologia do Centro de Ciências Agrárias e da Biodiversidade da Universidade

Federal do Cariri, no Crato. No laboratório, as amostras serão agitadas mecanicamente em mesa agitadora orbital e efetuadas diluições em série, para posterior transferência das alíquotas para placas de Petri contendo o meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), suplementado com tetraciclina (BDAS). As placas serão incubadas em condições de laboratório sob alternância luminosa e após o aparecimento de crescimento micelial, fragmentos de hifas serão transferidos individualmente para placas com meio BDA.

# 2.3 Teste de patogenicidade de pontos do processamento pós-colheita da banana do Cariri cearense

A patogenicidade dos isolados fúngicos obtidos será avaliada em pencas de banana (cv. Prata), conforme metodologia descrita por Ewané et al. (2013). Serão utilizadas pencas da segunda ou terceira mãos, sem sintomas de doenças, colhidas no dia anterior à experimentação e armazenadas a 13±2°C. No laboratório, cada penca será dividida em três grupos de quatro bananas. Visando selecionar somente pencas e frutas sadias, livrando-se de quaisquer defeitos, as frutas localizadas nas extremidades das pencas serão eliminadas, permanecendo somente duas frutas por penca. Os cortes das coroas serão realizados de maneira a se obter quadriláteros uniformes entre as pencas com dois frutos. Após a exsudação do látex, os tecidos da coroa serão secos com papel absorvente esterilizado e imersos em álcool a 50% (Lassois et al., 2008). As pencas serão mantidas à temperatura ambiente por 2 horas para que as coroas sequem. Um disco de ágar (5 mm de diâmetro) será retirado da margem de colônia de cada isolado com sete dias de crescimento em meio BDA sob alternância luminosa e depositado no meio da superfície exposta da coroa. Um disco de ágar sem crescimento fúngico será utilizado como testemunha. Cada isolado será inoculado em 10 pencas com dois frutos. Após a inoculação, as pencas serão acondicionadas em bandejas plásticas e mantidas nas condições descritas anteriormente (item 6.2). Os sacos plásticos e os papéis toalhas serão removidos das bandejas após 72 horas e as pencas serão mantidos nas condições de laboratório.

A avaliação da incidência da podridão da coroa será realizada aos 15 dias após a inoculação, pela divisão da penca em duas partes e observação da presença de necrose interna na coroa, indicativo da patogenicidade do isolado.

### 2.4 Caracterização dos isolados fúngicos obtidos de pontos do processamento póscolheita da banana do Cariri cearense

Os isolados fúngicos obtidos das amostragens das facas de despencamento e dos tanques de lavagem serão caracterizados em nível de gênero, e tentativamente em nível de espécie, pela análise das características morfológicas dos conídios. Para essa análise serão utilizadas técnicas diferentes para obtenção de conídios conforme as estruturas reprodutivas predominantes em cada isolado fúngico. No caso de isolados produtores de picnídios, um disco de ágar (5 mm de diâmetro) será retirado da margem de colônia de cada isolado com sete dias de crescimento em meio BDA sob alternância luminosa e transferido para o centro de uma placa de Petri com meio ágar-água 2% (AA) sobreposto por acículas de pinheiro esterilizadas (Slippers et al., 2004). No caso de isolados em que os esporos são produzidos em conidióforos livres, esporodóquios ou acérvulos, um disco de ágar (5 mm de diâmetro) será retirado da margem de colônia de cada isolado com sete dias de crescimento em meio BDA sob alternância luminosa e transferido para o centro de uma placa de Petri com BDA. As placas serão mantidas em

condições de laboratório sob alternância luminosa e o tempo de incubação dependerá do período para formação das estruturas de interesse. Em todos os isolados será observada a forma, cor, ornamentação da parede, presença ou ausência de septos, e outras características relevantes. Essas características serão utilizadas para identificação dos gêneros fúngicos, e tentativamente das espécies, com o auxílio de bibliografias especializadas (BARNETT; HUNTER, 2006; CROUS et al., 2009. ELLIS, 1971, 1976; LESLIE; SUMMERELL, 2006; MENEZES; OLIVEIRA, 1993; PHILLIPS et al., 2013; SUTTON, 1980; WATANABE, 2010).

### 2.5 Análises dos dados

Os dados de contagem das espécies fúngicas registradas serão utilizados para construir diagramas de frequência ao longo do ano de amostragem. Além disso, esses dados serão utilizados para comparar as frequências das espécies fúngicas nas diferentes etapas do beneficiamento e épocas de coleta, pelo teste não paramétrico de comparações múltiplas entre proporções (P=0,05), com o auxílio do programa Statistix 9.0.

### 3. CRONOGRAMA DE ATIVIDADES

As atividades a serem realizadas pelo estudante são:

- AT1. Coleta de amostras em pontos do processamento pós-colheita da banana do Cariri cearense:
- AT2. Obtenção de isolados fúngicos de pontos do processamento pós-colheita da banana do Cariri cearense;
- AT3. Teste de patogenicidade dos fungos associados à podridão da coroa em bananas do Cariri cearense;
- AT4. Caracterização dos isolados fúngicos obtidos de pontos do processamento pós-colheita da banana do Cariri cearense;
  - AT4. Análise de dados;
  - AT5. Escrita de relatório e artigos para divulgação dos resultados.

N°	2018					2019						
	08	09	10	11	12	01	02	03	04	05	06	07
AT1	X			X			X			X		
AT2	X			X			X			X		
AT3		X			X			X			X	
AT4		X	X		X	X		X	X		X	X
AT5												X
AT6												X