



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
FITOPATOLOGIA**

Dissertação de Mestrado

**ADAPTABILIDADE COMPARATIVA DE SEQUEVARES
DE *Ralstonia solanacearum* ECOTIPO MOKO
ASSOCIADAS A MURCHA E SÍNDROME SERGIPE**

Wallison Oliveira Vieira

Recife-PE

2022

WALLISON OLIVEIRA VIEIRA

**ADAPTABILIDADE COMPARATIVA DE SEQUEVARES
DE *Ralstonia solanacearum* ECOTIPO MOKO
ASSOCIADAS A MURCHA E SÍNDROME SERGIPE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientadora: Prof. Dra. Elineide Barbosa de Souza

Coorientador: Dr. Adriano Marcio Freire Silva

Coorientador: Prof. Dr. Marco Aurélio Siqueira da Gama

Recife-PE

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

V658a

Vieira, Wallison

ADAPTABILIDADE COMPARATIVA DE SEQUEVARES DE *Ralstonia solanacearum* ECOTIPO MOKO ASSOCIADAS A MURCHA E SÍNDROME SERGIPE: Dissertação de Mestrado / Wallison Vieira. - 2022.
65 f. : il.

Orientadora: Dra. Elineide Barbosa de Souza.

Coorientador: Dr. Adriano Marcio Freire Silva.

Inclui referências e anexo(s).

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Recife, 2022.

1. Musa sp.. 2. Moko da bananeira. 3. Fisiologia . 4. Biofilme. 5. Agressividade. I. Souza, Dra. Elineide Barbosa de, orient. II. Silva, Dr. Adriano Marcio Freire, coorient. III. Título

CDD 632

ADAPTABILIDADE COMPARATIVA DE SEQUEVARES DE *Ralstonia solanacearum* ECOTIPO MOKO ASSOCIADAS A MURCHA E SÍNDROME SERGIPE

WALLISON OLIVEIRA VIEIRA

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em:

ORIENTADORA:

Prof. Dr. Elineide Barbosa de Souza (UFRPE)

EXAMINADORES:

Prof. Dr. André da Silva Xavier (UFES)

Dra. Greecy Mirian Rodrigues Albuquerque (UFRPE)

**Recife-PE
Fevereiro-2022**

Ao meu avô (in memoriam), José Bonifácio por todos os ensinamentos, inspirações e coragem para enfrentar os desafios da vida.

DEDICO

Você é o seu único limite!
Autor desconhecido

A minha família, por todo amor, cuidado e por serem minha referência de dedicação, princípios e determinação. Em especial para os meus Pais Valtemiro Vieira do Amaral e Mirian Chaves de Oliveira Vieira.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

À Deus por toda a força para enfrentar momentos difíceis da vida e seguir em frente.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (URFPE), por proporcionar as condições necessárias para aprendizado e realização das atividades científicas e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo.

Aos docentes e demais servidores do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da URFPE, pelos ensinamentos e esforços para garantir melhor aprendizado durante o período conturbado de pandemia.

À professora Elineide Barbosa de Souza, por todos ensinamentos, conselhos, compreensão e inspiração na vida e na Fitopatologia, e ao professor Marco Gama, por toda atenção, cordialidade e referência profissional.

Ao Dr. Adriano Marcio, pela disposição, atenção e zelo na minha coorientação e por ser uma pessoa incrível, dedicada, que ama o que faz e está sempre a postos para servir.

A Dra. Greecy Mirian, por todas ajudas, conselhos e ensinamentos transmitidos.

À Liga Acadêmica em Fitopatologia Tropical, por ter sido minha “Ohana” e por termos sonhado juntos em construir um legado no Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia.

Aos meus colegas e amigos do LAFIBAC, José Messias, Rodrigo, Taciana Lopes, Lucas Amâncio, Higor Alexandre, Marcelo Henrique, Fernanda Corona, Leandro Velez, David, Fabiola, Lucas Nascimento, Lucas Lucena, Stefany, Leandro Victor, Marcelle e Pedro Henrique por todos aprendizados durante esse ano, desde práticas de laboratório, até ensinamentos para a vida. Levarei tudo que aprendi com vocês para toda minha jornada.

À Alex Francisco, Dona Nini e Sr. Edeildo, por ser minha família em Recife, me acolher e amparar em todos os momentos.

Aos meus amigos de apartamento, Gabriel Henrique e Dionísio Kor, por todo apoio e compreensão.

A minha bisavó Salustiana Alves de Almeida, as minhas avós, Maria Chaves e Maria Auxiliadora e ao meu avô Vicente pelo amor incondicional; as minhas tias, Miralda, Median, Mônica e Valdenicie pelas ligações, carinho e força durante período que estava no mestrado; aos meus irmãos Weldon, Mirella, Welligton e Ricardo (*in memoria*) por toda ajuda, apoio, força e determinação; e aos meus primos, Marcos, Matheus, Mediane, Miria, Marlisson, David, Willian, Victória, Rangel, Evelin, Felipe, Gustavo, Warley, que sempre estiveram ao meu lado nesse processo de formação;

Aos meus amigos Karine Sol, Victor Breno, Mayk, Maisa, Nívia, Vanessa, Evandro, Ericlis, Willian, Erimatéia, Letícia, Mariane, Bayne, Gustavo Mello, André Melo, Marcos Eric, Claudio Parro, Maiana Pimenta, Vanderlei, Ricardo Tomaz e Vanessa, por todo companheirismo e compartilhamentos durante toda a vida.

Aos meus amigos e colegas de PPGF Thais Regina, Bruno Mendes e Wagner por toda ajuda, apoio e ensinamentos durante o ano de 2022.

Aos laboratórios de Fungos de solo e Patologia de insetos por disponibilizarem seus equipamentos para execução dos experimentos, e aos colegas Iwanne, Dionisio e Marcos pela disposição e ajuda.

Ao Instituto Ipê, por ter concedido casa de vegetação para realização de experimentos.

A CBA sementes, por ter fornecido materiais para realização de experimentos.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	8
GENERAL ABSTRACT	9
CAPÍTULO I – Introdução geral	10
1. Bananicultura	11
2. Moko da bananeira e suas variações sintomatológicas	14
3. <i>Ralstonia solanacearum</i>	14
4. Adaptabilidade de microrganismos fitopatogênicos	19
REFERÊNCIAS	22
CAPÍTULO II	34
Adaptabilidade comparativa de sequevares de <i>Ralstonia solanacearum</i> ecotipo Moko associadas a murcha e síndrome Sergipe no Brasil	34
RESUMO	35
INTRODUÇÃO	36
MATERIAL E MÉTODOS	38
1. Isolados de <i>Ralstonia solanacearum</i>	38
2. Crescimento bacteriano em meio de cultura variando temperatura, pH e concentração de NaCl	39
3. Formação de biofilme	40
4. Produção e sensibilidade a bacteriocinas	40
5. Patogenicidade a diferentes hospedeiros	41
6. Agressividade a bananeira	42
7. Análises estatísticas	42
RESULTADOS	42
1. Crescimento bacteriano em meio de cultura variando temperatura, pH e concentração de NaCl (%)	42
2. Biofilme	44
3. Bacteriocinas	44
4. Patogenicidade a diferentes hospedeiros	44
5. Agressividade a bananeira	44
DISCUSSÃO	45
AGRADECIMENTOS	48
REFERÊNCIAS	48
CONCLUSÕES GERAIS	65

RESUMO GERAL

A bananicultura apresenta grande importância para o Brasil e um dos fatores que limita a produção nas regiões Norte e Nordeste é o Moko da bananeira. Essa doença é causada pela bactéria *Ralstonia solanacearum*, filotipo II (IIA e IIB) e sequevares IIA-6, IIA-24, IIA-41, IIA-53, IIB-3, IIB-4 e IIB-25, sendo os isolados denominados de ecotipo Moko. Além dos sintomas típicos do Moko que são observados em bananeiras na região Norte do país, existe a ocorrência de sintomas atípicos relacionados exclusivamente a sequevar IIA-53, que foram assinalados apenas na região Nordeste, sendo a doença denominada de síndrome Sergipe (*Sergipe facies*). Para entender esses dois grupos, foi realizada a comparação da adaptabilidade entre as sequevares IIA-24 e IIA-53 em relação ao crescimento da bactéria em diferentes condições ambientais, formação de biofilme e produção de bacteriocinas, bem como a adaptabilidade patogênica em relação a patogenicidade a diferentes espécies de plantas e agressividade a bananeira. As duas sequevares de *R. solanacearum* apresentaram adaptabilidade fisiológica similar, crescendo nas mesmas faixas de temperaturas (10 a 45°C), com temperatura ótima em torno de 35°C, níveis de pH (3,5 a 9,5) e concentrações de sal (0,5 a 5%). Porém, a IIA-24 apresentou maior crescimento em diferentes pHs (4,5 a 8,5) e a IIA-53 apresentou maior tolerância a 5% de NaCl. As duas sequevares foram capazes de produzir biofilme, com isolados classificados como moderados ou forte formadores, mas não produziram bacteriocinas. Plantas de tomateiro, batata inglesa e helicônias, mas não de amendoim, foram infectadas pelas duas sequevares que também não diferiram quanto a agressividade a bananeira. Com base nos resultados, concluímos que as duas sequevares apresentam comportamento adaptativo similares, quanto aos parâmetros fisiológicos, ecológicos e patogênicos analisados, os quais não possibilitaram relacionar a ocorrência das sequevares nas regiões do Brasil.

Palavras-chave: *Musa* sp., Moko da bananeira, fisiologia, biofilme, gama de hospedeiros, agressividade.

GENERAL ABSTRACT

Banana cultivation is of great importance to Brazil and one of the factors that limit production in the North and Northeast regions is the Moko of the banana tree. This disease is caused by the bacterium *Ralstonia solanacearum* phylotype II (IIA and IIB) and sequevars IIA-6, IIA-2, IIA-41, IIA-53, IIB-3, IIB-4 and IIB-25, the isolates being called of Moko ecotype. In addition to the typical symptoms of Moko that are observed in banana trees in the North region of the country, there is the occurrence of atypical symptoms related exclusively to sequevar IIA-53, which were reported only in the Northeast region, the disease being called Sergipe syndrome (*Sergipe facies*). To understand these two groups, we compared the adaptability between sequevars IIA-24 and IIA-53 in relation to bacterial growth in different environmental conditions, biofilm formation and bacteriocin production, as well as pathogenic adaptability in relation to pathogenicity to different plant species and aggressiveness to banana. The two sequevars of *R. solanacearum* showed similar physiological adaptability, growing in the same temperature ranges (10 to 45°C), with optimal temperature around 35°C, pH levels (3.5 to 9.5) and salt concentrations. However, IIA-24 showed greater growth at different pHs (4.5 to 8.5) and IIA-53 showed greater tolerance to 5% NaCl. The two sequevars were able to produce biofilm, with isolates classified as moderate or strong formers, but they did not produce bacteriocins. Tomato, potato and helicônia plants, but not peanuts, were infected by the two sequevars, which also did not differ in terms of aggressiveness to bananas tree. Based on the results, we conclude that the two sequevars present similar adaptive behavior, regarding the analyzed physiological and pathogenic parameters, which did not make it possible to relate the occurrence of sequevars in the regions of Brazil.

Keywords: *Musa* sp., banana tree Moko, physiology, biofilm, host range, aggressive

CAPÍTULO I

Introdução Geral

ADAPTABILIDADE COMPARATIVA DE SEQUEVARES DE *Ralstonia solanacearum* ECOTIPO MOKO ASSOCIADAS A MURCHA E SÍNDROME SERGIPE

1. Bananicultura

A bananeira (*Musa* sp.) pertence à classe Liliopsida, ordem Scitaminales, família Musaceae e ao gênero *Musa*, o qual é subdividido nas seções Australimusa, Callimusa, Rhodochlamys e Eumusa (SALOMÃO; SIQUEIRA, 2015). Destas, a seção Eumusa apresenta o maior número de espécies, incluindo a *Musa acuminata* e a *Musa balbisiana*, que deram origem as cultivares comerciais e possuem ampla distribuição geográfica (DANTAS, SOARES FILHO, 2000).

O provável centro de origem da bananeira é a Ásia, apesar de algumas cultivares terem surgido na África Oriental e Ilhas do Pacífico (DANTAS; SOARES FILHO, 2000). Não se tem relatos da introdução desta cultura no Brasil, mas de acordo com as cartas de Pero Vaz de Caminha, a bananeira já era cultivada pelos indígenas desde o período da colonização europeia, sendo encontradas as variedades “Branco” e “Pacoba”. Com o avanço dos estudos, foi revelado que a ‘Branco’ tinha maior ocorrência no litoral e a ‘Pacoba’ na região da Amazônia. Contudo, também houve a inserção de novas variedades trazidas da Europa e da Índia pelos portugueses (MOREIRA; CORDEIRO 2006).

As bananeiras possuem grande complexidade genômica. A espécie *Musa acuminata* Colla (AA) e a *Musa balbisiana* Colla (BB) correspondem aos diversos diploides selvagens existentes (DANTAS; SHEPHERD, 1997). Com o cruzamento sucessivo dessas duas espécies, surgiram os níveis triploides e tetraploides. Dessa forma, foram definidos grupos genômicos, que são múltiplas combinações dos genomas de bananeiras das duas espécies mencionadas, sendo representados pelas letras A (*M. acuminata*) e B (*M. balbisiana*), surgindo então os grupos e subgrupos comerciais, tais como Cavendish (AAA), Gros Michel (AAA), Prata (ABB), Terra (AAB), Figo (ABB) e híbridos tetraploides (AAAA) (CORDEIRO, 2000). Existem quatro padrões ou tipos principais de variedades de bananeiras no Brasil: Maçã, Prata, Cavendish (Banana D’Água ou Caturra) e Terra, sendo que para cada tipo há uma ou mais variedades. O tipo Prata comporta as variedades Prata, Prata anã, Pacovan, FHIA-18, Pacovan Ken, Preciosa e Maravilha; já o tipo Maçã é composto pelas variedades Maçã verdadeira e a Tropical; o tipo Cavendish, por sua vez, é constituído principalmente pelas variedades Grande

Naine, Nanica, Nanicão; enquanto o tipo Terra, tem as variedades Terra e D'Angola (EMBRAPA, 2004).

As variedades Prata, Prata anã e Pacovan, são as mais cultivadas no Brasil (EMBRAPA, 2004). A preferência do mercado consumidor, o destino de produção (indústria ou consumo in natura), resistência a pragas e doenças, porte da planta e tolerância a ventos são alguns dos aspectos levados em consideração na escolha destas cultivares (EMBRAPA, 2004). As variedades destinadas principalmente ao mercado interno mais difundidas no país são a Prata, Pacovan, Prata Anã, Mysore, Terra e D'Angola, pertencentes ao grupo AAB, enquanto a Nanica, Nanicão e Grande Naine do grupo AAA são voltadas para exportação (EMBRAPA, 2004)

A banana é a segunda fruta mais consumida no planeta e considerada como a mais importante para segurança alimentar na América Latina e Caribe, que no triênio de 2016-2018, exportaram cerca de 21 milhões de toneladas da fruta, movimentando em torno de 6 bilhões de reais (ALDENDORF, 2019). Em 2020, as exportações globais de banana permaneceram relativamente estáveis, com cerca de 21,5 milhões de toneladas, com destaque para América Latina e Caribe (16,5 milhões t), Ásia (4,4 milhões t) e África (0,6 milhões t) (FAO, 2020).

A crescente demanda por frutas tropicais, principalmente por parte dos países de clima temperado, contribui para um cenário otimista na produção e exportação de banana. De acordo com projeções feitas pela “Food and Agriculture Organization of the United Nations” (FAO) para os anos 2019 a 2028, os países da América Latina e o Caribe, exportadores da fruta, poderão ser responsáveis por 80% do total exportado entre as regiões produtoras em todo o mundo (FAO, 2020).

O Brasil é o quarto maior produtor de banana no mundo e o maior produtor das Américas, ficando atrás apenas da Índia, China e Indonésia. Mais de 90% da banana produzida é destinada ao mercado interno. No entanto, no ano de 2020, o Brasil exportou mais de 843 mil de t de banana fresca ou seca, movimentando mais de 25 milhões de dólares, com preço médio de 3.100,19US\$/t. Já no ano de 2021, o país exportou mais de 108.752,74 t da fruta, movimentando mais de 37 milhões de dólares (COMEX STAT, 2021), o que mostra um crescimento nas exportações. Os principais compradores da banana brasileira são Argentina (40%), Uruguai (39,6%) e Reino Unido (4,6%) (COMEX STAT, 2020; FAO, 2020b).

Os maiores índices de produção de banana no Brasil no ano de 2019 concentraram-se nas regiões Sudeste e Nordeste com 34,4% e 31,4% da produção,

respectivamente (EMBRAPA, 2019), destacando-se o estado de São Paulo como maior produtor nacional de banana, com cerca de 50 mil hectares e produtividade de 20,02 t/ha, seguido pela Bahia com 64 mil hectares e rendimento de 12,81t/ha. A produção destas regiões foi seguida pela região Sul (15,4%), Norte (11,6%) e Centro-Oeste (4,7%), destacando-se na produção nacional os estados de Minas Gerais, Santa Catarina, Pernambuco, Espírito Santo, Ceará, Pará e Goiás (EMBRAPA, 2019). No ano de 2020, foram produzidas 6.637.308 t, em uma área de 456.992 ha, movimentando mais de 863 milhões de reais (IBGE, 2020). O último censo agropecuário destaca que no Brasil existem 202.513 propriedades rurais envolvidas com a bananicultura e desse total 81% estão no modelo de agricultura familiar, responsáveis por 48% da produção brasileira (IBGE, 2017).

Diversos fatores de natureza biótica ou abiótica, afetam a bananicultura, contribuindo com a queda da produção ou até mesmo levando a perda total do bananal. Entre as condições abióticas que podem provocar perdas estão a seca, os ventos fortes, as inundações e as geadas. Dentre os fatores de origem biótica, por sua vez, estão o ataque de pragas, sendo as mais importantes: broca do rizoma (*Cosmopolite sordidus* Germar), tripses da ferrugem dos frutos (*Chaetanaphothrips* spp.), broca-rajada (*Metamasius hemipterus* L.) e traça da bananeira (*Opogona sacchari* Bojer) (FRANCELLI, *et al.*, 2015), e doenças, tais como: sigatoka amarela (*Mycosphaerella musicola* Leach ex Mulder), sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet), mal-do-panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* (E.F.Sm.) W.C.Snyder & H.N.Hansen) (CORDEIRO, 2000; KIMATI, 1997) e Moko da bananeira (*Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.*) (CORDEIRO, 2000).

O Moko da bananeira é uma doença de grande importância econômica mundial e para o Brasil, por apresentar difícil controle e alto poder destrutivo, podendo levar a perda total do bananal (COELHO *et al.*, 1998), sendo um fator limitante na produção de banana na região Norte do país (COELHO NETTO *et al.*, 2004). Em decorrência da sua importância, a bactéria *R. solanacearum* ecotipo Moko, agente causal da doença, é classificada como praga quarentenária presente no país e o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento controla os processos de comercialização e transporte de frutos, mudas e fragmentos de bananeiras nos Estados em que ela ocorre (MAPA, 2009; MAPA 2018).

2. *Ralstonia solanacearum*

A bactéria *R. solanacearum* é Gram-negativa, com forma de bastonete, dimensões de 0,5-0,7 x 1,5-2,5µm, aeróbica estrita e não esporogênica (AGRIOS, 2005). Os flagelos, quando presentes, são polares e em número de um a quatro (GENIN; BOUCHER, 2004). Em meio contendo cloreto de trifenil-tetrazolium, as colônias virulentas são grandes, de aparência fluida e, de forma pouco definida, contendo borda esbranquiçada e centro avermelhado ou róseo, e as avirulentas são pequenas, vermelhas, secas e circulares, pois a bactéria produz pequena massa de polissacarídeos extracelulares (EPS) (KELMAN, 1954; LOPES; ROSATO, 2018). Quando cultivada em meio de cultura contendo tirosina pode produzir pigmento marrom não fluorescente (MEHAN *et al.*, 1994). É uma bactéria desnitrificante, que promove a hidrólise negativa ou fraca, em amido e em gelatina. Apresenta reação positiva para os testes de oxidase e catalase, e negativa para os testes de arginina e lipase, pois não as utiliza como fonte de carbono, bem como não forma levana a partir do acúmulo de sacarose e acumula poli-β-hidroxibutirato (PHB) como fonte de carbono (EU, 1998). É tolerante a sais e sua faixa de crescimento está nas temperaturas entre 25°C a 35°C (MEHAN *et al.*, 1994).

R. solanacearum pertence ao domínio Bacteria, filo Proteobacteria, classe β-Proteobacteria, ordem Burkholderiales, família Ralstoniaceae e gênero *Ralstonia* (KADO, 2010; YABUUCHI *et al.*, 1995). Erwin F. Smith, no ano de 1896, fez a sua primeira classificação a partir de isolados obtidos em plantas de tomateiro, nomeando-a como *Bacillus solanacearum* Smith (SMITH, 1896). Desde então, sua nomenclatura passou por várias reclassificações taxonômicas, sendo chamada de *Pseudomonas solanacearum* (Smith) Smith, *Phytomonas solanacearum* (Smith) Bergey *et al.* (BERGEY *et al.*, 1992) e *Burkholderia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* (YABUUCHI *et al.*, 1992).

Em 1995, com base no sequenciamento da região 16S rRNA e análises de quimiotaxia, foi nomeada de *R. solanacearum* (YABUUCHI *et al.*, 1996). Posteriormente, *R. solanacearum* foi considerada um complexo de espécies no qual incluía além de *R. solanacearum* as espécies *Ralstonia syzigii* (Roberts *et al.*) Vanechoutte *et al.* (2004), agente causal da “doença de Sumatra do cravo da Índia” de ocorrência em Java e Sumatra, e ‘Blood disease bacterium’ (BDB) que ocorre na Indonésia (FEGAN; PRIOR, 2005).

Os isolados de *R. solanacearum* apresentam uma grande diversidade. Inicialmente foi classificada em nível infraespecífico em cinco raças patogênicas, de acordo com a

gama de hospedeiros (BUDDENHAGEN *et al.*, 1962; HE *et al.* 1983) e em seis biovars, quanto à capacidade de metabolizar dissacarídeos (lactose, maltose e celobiose) e álcoois (manitol, sorbitol e dulcitol) (HAYWARD, 1964). Os isolados que infectam bananeira foram classificados na raça 2, biovar 1. Posteriormente, com a criação do complexo *R. solanacearum*, foi criado um sistema hierárquico de classificação constituído de quatro filotipos correlacionados à origem geográfica dos isolados (I- Ásia, II- Américas, III- África e ilhas vizinhas e IV- Indonésia, Austrália e Japão). Em cada filotipo os isolados são separados em sequevars, baseado na divergência nucleotídica < 1% na sequência parcial do gene *egl* (FEGAN; PRIOR, 2005; POUSSIER *et al.*, 2000) e atualmente existem 70 sequevars (ALBUQUERQUE *et al.*, 2021; GUTARRA *et al.*, 2017; LI *et al.*, 2016; LIU *et al.*, 2017; RAVELOMANANTSOA *et al.*, 2018; SANTIAGO *et al.*, 2017; SHE *et al.*, 2017). Adicionalmente, os isolados também são classificados em oito clados, os quais são relacionados aos filotipos (WICKER *et al.*, 2012), e clones (FEGAN; PRIOR, 2005).

Em 2014, a partir de uma análise filogenética da sequência parcial do gene da endoglucanase e região ITS, e de características bioquímicas, culturais, fisiológicas e de hibridização DNA-DNA, foi proposta a reclassificação taxonômica do complexo *R. solanacearum* em três genoespécies independentes. A espécie *R. pseudosolanacearum* Safni *et al.* (2014) englobou os isolados pertencentes aos filotipos I e III; *R. solanacearum* consistiu dos isolados do filotipo II (IIA e IIB); *R. syzigii* (Roberts *et al.*) Vaneechoutte *et al.* (2004) emend. Safni *et al.* englobou os isolados do filotipo IV, subdividida em três subespécies: *R. syzigii* subsp. *indonesiensis* Safni *et al.* agrupou isolados de *Ralstonia* causadores de murcha em solanaceas, *R. syzigii* subsp. *syzigii* Safni *et al.* agrupou os isolados anteriormente denominados de *R. syzigii* associados à doença de Sumatra do cravo-da-índia, e *R. syzigii* subsp. *celebesensis* Safni *et al.* incluiu isolados de “Blood disease bacterium” (SAFNI *et al.*, 2014). Baseados em análises de genômica comparativa, hibridização genômica comparativa, proteômica e características metabólicas, Remenant *et al.* (2010), Prior *et al.* (2016) e Zhang e Qiu (2016) também suportaram a divisão do complexo em três espécies independentes e subespécies.

Isolados de *R. solanacearum* ecotipo Moko pertencem ao filotipo II (IIA ou IIB), sequevars IIA-6, IIA-24, IIA-41, IIA-53, IIB-3, IIB-4, IIB-25. Na região Norte do Brasil ocorrem as sequevars IIA-6, IIA-24, IIA-41, IIB-4, IIB-25, com predominância da sequevar IIA-24 e IIA-41, e na região Nordeste, são encontrados apenas isolados da sequevar IIA-53 (SILVA, 2018; ALBUQUERQUE *et al.*, 2021). Diversos estudos ainda

precisam ser realizados para entender as diferenças na adaptabilidade de isolados dessas sequevares que possam estar relacionadas a ocorrência em determinada região do Brasil.

3. Moko da bananeira e suas variações sintomatológicas

O Moko da bananeira ou murcha bacteriana das bananeiras tem como agente etiológico a bactéria *R. solanacearum* ecotipo Moko, que além da bananeira também infecta helicônia (*Heliconia* spp.) (HAYWARD, 1994; PINHEIRO *et al.* 2011). A terminologia “ecotipo” relaciona-se a um grupo de isolados altamente adaptados ao hospedeiro, que no caso do ecotipo moko os isolados estabelecem íntima relação com *Musa* sp. (AILLOUD *et al.*, 2015). Esta bactéria, relatada pela primeira vez na Guiana, no ano de 1840, e logo depois em Trinidad e Tobago (CORDEIRO, 2000), apresenta ampla distribuição geográfica, com relatos de ocorrência em países da América do Norte, América Central, América do Sul, Caribe e Ásia (AILLOUD *et al.*, 2015; BLOMME *et al.*, 2017; CELLIER *et al.*, 2015; FEGAN; PRIOR 2006; OBRADOR-SÁNCHEZ *et al.*, 2017). No Brasil, sua detecção data de 1976 no estado do Pará (TOKESH; DUARTE, 1976) e desde então vem disseminando-se para vários Estados nas regiões Norte e Nordeste do país, estando atualmente restrita aos estados do Amapá, Amazonas, Pará, Rondônia e Roraima (Norte), Alagoas e Sergipe (Nordeste) (COELHO NETTO *et al.*, 2004; MAPA, 2018; TOKESHI, DUARTE 1976; TRINDADE *et al.* 2002; VIEIRA JUNIOR *et al.* 2010). O Moko também foi registrado em helicônias no estado de Pernambuco (MAPA, 2007), entretanto, atualmente o estado é considerado livre da doença (MAPA, 2018).

O processo de infecção que origina os sintomas clássicos de Moko da bananeira se dá a partir do sistema radicular, com a penetração da bactéria através de ferimentos causados por atrito com partículas do solo, insetos habitantes do solo, nematoides e fatores mecânicos como ação do vento que permite o atrito entre partículas abrasivas do solo com as raízes (SEQUEIRA, 1998). Após sua entrada, a bactéria coloniza os vasos do xilema da raiz, rizoma e pseudocaule, causando obstrução em decorrência do acúmulo de exopolissacarídeos (EPS), principal fator de virulência deste patógeno (GENIN; DENNY, 2012). Como consequência da colonização ocorre a limitação do fluxo de seiva e indução dos sintomas típicos da doença – amarelecimento, murcha e necrose das folhas internas (ALBUQUERQUE *et al.*, 2014), causando a quebra do pecíolo (CORDEIRO; 2000), o que confere “aspecto de guarda-chuvas fechado”. De acordo com Pereira *et al.* (2003), o escurecimento vascular no rizoma ocorre a partir da região de conexão do

rizoma principal com o rizoma das brotações. No pseudocaule ocorre descoloração dos vasos, sendo observada a partir do centro para as extremidades. Dessa forma, a bactéria coloniza toda a touceira, infectando também o pedúnculo e os frutos (FEGAN; PRIOR, 2006). O engaço e as ráquis dos cachos colonizados apresentam escurecimento vascular, visualizados com o corte transversal, com aspecto de pontos avermelhados (FANCELLI *et al.*, 2003; PEREIRA *et al.*, 2003), os frutos apresentam amadurecimento desuniforme e prematuro, com podridão seca e coloração parda (AGRIOS, 2005; SALOMÃO; SIQUEIRA, 2015). No Brasil, os sintomas típicos de Moko da bananeira são encontrados em bananais da região Norte.

O isolados do ecotipo Moko de *R. solanacearum* são agrupados em cinco grupos, com base em sua ecologia, tais como, especificidade e virulência: grupo A (Amazônica), agrupa isolados provenientes da bacia amazônica, com ocorrência na margens dos rios, estando sujeitas a inundações periódicas e podem ser transmitidas por insetos; grupo SFR, causa murcha rápida em todos os grupos de bananeiras, transmitido por insetos visitantes de inflorescências; grupo B (Banana), habita o solo e é altamente virulento em bananeiras do grupo AAA; grupo D (Distorção), causam distorções foliares e murcha lenta no grupo de bananeiras AAB; grupo H (Helicônia), presente na costa Rica, causa murcha em helicônias e em bananeira do subgrupo Terra (AAB) e não é patogênico ao grupo AAA (FRENCH; SIQUEIRA, 1970).

Cordeiro *et al.* (2016) relataram ainda o grupo S (Sergipe), assim denominado devido a correlação com o estado de origem, onde foi detectado e associam-no a transmissão por insetos. Albuquerque *et al.* (2014) caracterizaram o grupo S como associado a síndrome Sergipe, estendendo suas características para isolados que são transmitidos por insetos visitantes de inflorescência e pertencentes a sequevar IIA-53. Os isolados da sequevar IIA-53, também foram identificados no estado de Alagoas, cuja infecção foi detectada ocorrendo preferencialmente via cachos e ocasionalmente via rizoma (OLIVEIRA, 2020).

As sequevares IIA-6, IIA-24, IIA-41, IIB-3, IIB-4 e IIB-25 de *R. solanacearum*, são responsáveis pelos sintomas típicos do Moko da bananeira. Entretanto, existem variações sintomatológicas, nomeadas como síndrome Sergipe (*Sergipe facies*), que é causada pela sequevar IIA-53, e Bugtok, causada pela sequevar IIB-3, sendo esta última encontrada apenas nas Filipinas (ALBUQUERQUE *et al.*, 2021; BLOMME *et al.* 2017; FEGAN, PRIOR 2006).

A síndrome Sergipe é a designação de uma variação dos sintomas causados pela *R. solanacearum* ecotipo Moko, exclusivamente por isolados da sequevar IIA-53. Esta síndrome é ocorrente em bananais em dois estados do nordeste brasileiro, Sergipe e Alagoas. A infecção tem início na inflorescência, por meio de insetos visitantes de inflorescência. Ao colonizar o cacho, ocasiona nos frutos amadurecimento prematuro e desuniforme, podridão seca e necrose externa. Pode ocasionar escurecimento dos feixes vasculares do pseudocaule, mas raramente promove a murcha de toda touceira (ALBUQUERQUE *et al.*, 2014).

Outra denominação para variação dos sintomas do Moko é a Bugtok, causada somente pela sequevar IIB-3 e com ocorrência apenas nas Filipinas em plantas das cultivares Saba (*Musa ABB*) e Cardaba (*Musa BBB*). Assim como a síndrome Sergipe, a *R. solanacearum* penetra via inflorescência masculina, também por meio de insetos visitantes de inflorescência (BLOMME *et al.*, 2017). Alguns insetos relatados como dispersores desta bactéria são a abelha arapuá (*Trigona spinipes*), vespas do gênero *Polybia*, moscas do gênero *Drosophila* (MALAVOLTA JÚNIOR *et al.*, 2013) e o trips (*FRANKLINIELLA* sp.) (SOGUILON *et al.*, 1995). O processo de infecção tem início na inflorescência, causa podridão seca da polpa dos frutos, mais intensa no centro (PLOETZ *et al.* 2003; SOGUILON *et al.* 1995), e em estados avançados da infecção todos os frutos do cacho podem apresentar sintomas (SOGUILON *et al.*, 1995). Normalmente, os sintomas estão presentes apenas no pedúnculo/ráquis, mas em casos raros, pode ocorrer a invasão dos feixes vasculares do pseudocaule, provocando descoloração marrom-avermelhada dos tecidos (BLOMME *et al.*, 2017).

Genômica comparativa e abordagens filogenômicas foram utilizadas para identificar a similaridade do genoma de isolados que causam sintoma de Moko e suas variantes sintomatológicas. A identidade média de nucleotídeos e a hibridização DNA-DNA revelaram alta correlação (> 96% e > 78%, respectivamente) entre os genomas das variantes de Moko. A análise do pan-genoma identificou 21,3% de regiões hereditárias entre representantes das variantes de Moko típico e síndrome Sergipe, que podem ser atribuídas a uma abundância de clusters homólogos exclusivos. Os genomas do ecotipo Moko compartilharam 1.951 genes ortólogos, mas os representantes que induzem sintomas típicos não exibiam ortólogos exclusivos. Além disso, os genomas dos isolados associados a Bugtok e a síndrome Sergipe não compartilharam nenhuma informação única com base nesta anotação. Portanto, as análises genômicas e filogenômicas foram

insuficientes para diferenciar os isolados de ecotipo Moko em relação aos diferentes sintomas induzidos (PAIS, 2020).

4. Adaptabilidade de microrganismos fitopatogênicos

De acordo com Darwin (1859), a atuação dos mecanismos de evolução, tais como mutações, recombinação, fluxo gênico, migração, transferência gênica, efeito estocásticos em pequenas populações, deriva genética, depressão endogâmica, efeito gargalo e efeito fundador sobre a variabilidade genética dos organismos, permite que os seres mais aptos sobrevivam. Dessa forma, as características que favorecem um grupo de indivíduos de uma determinada espécie, no momento da seleção, são passadas para as próximas gerações (ROSA; MOREIRA, 2014).

Os organismos mais evoluídos não são necessariamente os mais fortes, o maior, os mais rápidos ou mais resistentes, mas sim os que apresentam melhor aptidão para sobreviver e reproduzir mediante as condições do ambiente que está inserido (DARWIN, 1859). O acúmulo de variações vantajosas de um organismo em relação ao ambiente, permite que ele seja altamente adaptado ao seu centro de origem (GHINI; KIMATI, 2002). A adaptabilidade é um processo gradual e acumulativo, conforme as condições de vida que um organismo suporta e que permite a sua perpetuação (SILVA; SANTOS, 2015).

Atualmente, a aptidão de um organismo está associada com seu sucesso reprodutivo mensurado pela proporção de genes de um indivíduo presente nas próximas gerações (RIDLEY, 2004). A aptidão de um genótipo depende do ambiente que o organismo vive, sendo passadas para os descendentes, permitindo a adaptabilidade de determinada espécie (ROSA; MOREIRA, 2014).

Alterações ambientais e ou exploração de novos nichos ecológico permitem redirecionamentos da pressão de seleção, que associados aos caracteres estruturais, fisiológicos e comportamentais, aumentam a aptidão dos organismos de uma população ou das gerações posteriores (RIDLEY, 2004).

Adaptabilidade microbiana compreende as respostas atribuídas as pressões de seleção, proporcionadas pelo ambiente, para um grupo de microrganismos geneticamente distintos dos demais indivíduos da sua espécie (LEWIN *et al.* 2005). Portanto, estes são considerados mais adaptados para as condições de sobrevivência no meio que estão inseridos, dando assim a oportunidade evolutiva para a espécie. Nesse cenário, apenas os

organismos mais adaptados conseguem sobressair e perpetuar a espécie (MILGROOM, 2015).

A capacidade adaptativa de um fitopatógeno pode ser descrita como habilidade de sobreviver em determinado ambiente, seja em condições saprofíticas ou patogênicas, por longo período, quando comparado com outros indivíduos submetidos as mesmas condições abióticas e posteriormente nos hospedeiros (NELSON, 1979; HARTEVELD *et al.*, 2014). Dessa forma, para um fitopatógeno estabelecer um processo infeccioso deve estar bem qualificado quanto a parâmetros fisiológicos, como a capacidade de tolerar condições adversas do ambiente (temperatura, pH e salinidade) (GHATAK, 2017). Uma espécie de fitopatógeno mais adaptada as alterações ambientais que promovam estresse biótico e abiótico no ambiente, pode substituir outras espécies de microrganismos, sejam patogênicas ou não (BALODI *et al.*, 2017).

As condições ambientais da região de ocorrência interferem diretamente no estabelecimento dos microrganismos. A adaptação aos parâmetros como temperatura, pH e salinidade é decisiva para a adaptabilidade fisiológica de uma bactéria em um determinado ecossistema. Esses fatores interferem diretamente na capacidade de absorção de nutrientes, na reprodução e atividades enzimáticas (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017). Bactérias com melhor crescimento entre 0°C a 18°C, são classificadas como psicrófilas; entre 25 a 40°C como mesófilas e entre 50 a 80°C, como termófilas (ALTERTHUM, 2015). De maneira geral, bactérias fitopatogênicas são mesófilas, como a *R. solanacearum*, que tem crescimento ótimo nas temperaturas entre 25°C a 35°C (MEHAN *et al.*, 1994). O pH é outro fator de grande importância para multiplicação bacteriana, e bactérias que apresentam sua melhor faixa de crescimento em pH mais ácido são nomeadas de acidófilas, pH neutros de neutrófilas e pH alcalinos de alcalinófilas (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017). A bactéria *R. solanacearum* é classificada como predominantemente neutrófila, o que indica que nessa condição requerer valores próximos a neutralidade para melhor nutrição e crescimento (SADDLER, 1994). Em meio ácido, ocorre a desnaturação das enzimas presentes na superfície da parede celular bacteriana, acidificação do citoplasma, redução do crescimento, aumento da fase lag e diminuição do transporte iônico (BEALES *et al.*, 2004). Já os ambientes com pH próximos a neutralidade ou ligeiramente alcalino são favoráveis a virulência das bactérias ao hospedeiro (BEDENDO *et al.*, 2018). No entanto, solados de *R. solanacearum* obtidos de tabaco, crescem em diferentes condições de pH, com maiores taxas de crescimento entre os níveis de 5 a 8 (WANG *et al.*, 2019). A alta concentração de sais no ambiente

também é outro fator determinante para o crescimento bacteriano, sendo consideradas como halofitas, quando requerem salinidade elevada para a multiplicação, halotolerantes quando a relação de crescimento é inversamente proporcional a concentração de sais e com ótimo crescimento em baixas concentrações de sais (MADIGAN *et al.*, 2016).

Conforme as características do ambiente que estão inseridos, os microrganismos podem lançar mecanismos adaptativo que garanta sua sobrevivência, o que permite ser inserindo nas relações ecológicas, sejam elas parasitismo, simbiose, comensalismo, predação. A produção de biofilme a partir do acúmulo de exopolissacarídeos regulados por um sistema de “quorum sensing” permite a sobrevivência de bactérias em condições adversas, como temperaturas elevadas, radiação ultravioleta, salinidade do meio e pH ácido ou alcalino (MANSFIELD *et al.*, 2012; BOGINO *et al.*, 2013; YIN *et al.*, 2019), como também é um mecanismo de patogenicidade em *R. solanacearum* pois permite aderência e obstrução dos vasos do xilema (LOWE-POWER *et al.*, 2018). Compostos antibióticos, produzidos a partir do metabolismo secundário, chamados de bacteriocinas, para inibir o crescimento de isolados bacterianos da mesma espécie ou de espécies diferentes, também permitem o estabelecimento de bactérias no ambiente (BARDGETT; VAN DER PUTTEN, 2014). *R. solanacearum* apresenta boa capacidade de produção de bacteriocinas (CUPPELS *et al.* 1978; COELHO NETTO *et al.* 2003; ARAUJO 2005; HUERTA *et al.* 2015).

Em bactérias, estudos sobre gama de hospedeiro, agressividade e sobrevivência têm sido úteis para avaliar a adaptabilidade (SILVA, 2020). *R. solanacearum* apresenta alta diversidade genética, permitindo sua adaptação em diversos ambientes e hospedeiros. Somente em solanáceas, existem 14 sequevares com ocorrência no Brasil (I-17, I-18, I-31, IIA-41, IIA-50, IIA-58, IIA-59, IIB-2, IIB-25, IIB-28, IIB-54, IIB-55, IIB-56 e IIB-57), e em Musaceae 6 sequevares (IIA-6; IIA-24; IIA-41; IIB-4; IIB-25 e IIA-53) (ALBUQUERQUE *et al.*, 2021; SANTIAGO *et al.*, 2017), das quais a sequevar IIA-53 manifesta diferenças no processo infeccioso e manifestação dos sintomas em bananeiras (ALBUQUERQUE *et al.*, 2014).

No Brasil são encontrados isolados dos grupos A, SFR, B, D e S. Os grupos A, SFR, B e D são patogênicos à bananeira triploide e os isolados de SFR, A e B são mais agressivos que o D (PEREIRA *et al.* 2003; FERNANDES 2005). De acordo com Albuquerque *et al.* (2014), pouco se sabe sobre a patogenicidade da sequevar IIA-53 a helicônia, para outros subgrupos de bananeira e outros hospedeiros. Os mesmos autores, também afirmam que essa sequevar não é patogênica a tomateiro e que apresenta

patogenicidade em bananeiras dos subgrupos Pacovan (AAB) e Pacovan Ken (híbrido AAAB). Todos os isolados dos grupos são naturalmente patogênicos a *Musa* sp. e quando inoculados artificialmente, podem causar murcha em tomateiros e outras solanáceas, apesar de nunca terem sido encontrados na natureza causando sintomas nessas plantas (AILLOUD *et al.*, 2012; ALBUQUERQUE *et al.*, 2014; FEGAN; PRIOR, 2005).

Com relação a sobrevivência no solo, isolados dos grupos SFR e D, possuem capacidade de sobrevivência no solo inferior a seis meses, enquanto que os grupos A e B sobrevivem por mais de 12 meses. Na Amazônia, isolados A e SFR, prevalecem em solos de várzea, enquanto que os pertencentes ao B e D, são encontrados em terra firme (FERNANDES, 2005; PEREIRA *et al.*, 2003), não existindo relatos sobre a sobrevivência de isolados do grupo S (ALBUQUERQUE *et al.*, 2021). Também não existem estudos comparando isolados de *R. solanacearum* ecotipo Moko de diferentes sequevares quanto a tolerância a condições ambientais, formação de biofilme, gama de hospedeiro e agressividade a bananeira, dentre outros aspectos.

Para melhor entendimento sobre os processos adaptativos da *R. solanacearum* ecotipo Moko, este trabalho tem como objetivo comparar as sequevares causadoras de sintomas típicos de Moko (IIA-24) e síndrome Sergipe (IIA-53), sob diferentes condições fisiológicas, ecológicas e patogênicas, a fim de determinar possíveis vantagens adaptativas e definir se tais vantagens podem estar relacionadas a prevalência das sequevares em determinadas regiões do Brasil.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, N. G. **Plant pathology**: plant diseases caused by prokaryotes: bacteria and mollicutes. 5. ed. Florida: Elsevier Academic Press, 2005. 922 p.
- AILLOUD, F.; LOWE, T.; CELLIER, G.; ROCHE, D.; ALLEN, C.; PRIOR, P. Comparative genomic analysis of *Ralstonia solanacearum* reveals candidate genes for host specificity. **BMC Genomics**, London, v. 16, n. 270, p. 270-281, 2015.
- ALBUQUERQUE, G. M. R.; SANTOS, L. A.; FELIX, K. C. S.; ROLLEMBERG, C. L.; SILVA, A. M. F.; SOUZA, E. B.; CELLIER, G.; PRIOR, P.; MARIANO, R. L. R. Moko disease-causing strains of *Ralstonia solanacearum* from Brazil extend known diversity in paraphyletic phylotype II. **Phytopathology**, St. Paul, v. 104, n. 11, p. 1175-1182, 2014.

ALBUQUERQUE, G. M.; SILVA, A. M. F.; PAIS, A. K. L.; SILVA, L.V.; GAMA, M. A. S.; SOUZA, E. B. Avanços na Identificação, variabilidade e genômica comparativa de *Ralstonia solanacearum* Ecotipo Moko no Brasil. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 118-127, 2021

ALDENDORF, S. Bananas and Major Tropical Fruits in Latin America and the Caribbean. The significance of the region to world supply - Special features. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, Rome, v. 2, n. 12, p.73-76, 2019.

ALTERTHUM, F. Nutrição e metabolismo bacterianos. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 6 ed. São Paulo: Atheneu, 2015. p. 21-30.

BALODI, R.; GHATAK, L.V.; BISHT, S.; SHUKLA, N. Reproductive fitness of fungal phytopathogens: deriving co-evolution of host-pathogen systems. In: GHATAK A; ANSAR M (Ed.). The phytopathogen: evolution and adaptation 1. Ed. **Apple Academic Press**, New Jersey.2017, p. 41-64.

BERGEY, D. H.; KRIEG, N. R.; STALEY, T. J. **Manual of systematic bacteriology: the Proteobacteria**. 1 ed. New York: Springer-Verlag, 1923. v. 2, 442 p.

BEALES, N. OGBUM E.; BETTS G.D. Adaptation of microorganisms to cold temperatures, weak acid preservatives, low pH, and osmotic stress: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chigaco, v. 3, p. 1-20, 200.4

BEDENDO, I. P.; AMORIM, L.; MATTOS-JR, D. Ambiente e doença. In: Amorim L, Rezende J.A.M.; Bergamin Filho A. (ed) **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**, 5. Ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2018. p. 93-106.

BARDGETT, R. D.; VAN DER PUTTEN, W. H.; Belowground biodiversity and ecosystem functioning. **Nature**, Manchester, v. 15, p.505-511, 2014.

BOGINO, P.C.; OLIVA, M. L. M.; GIORDANO, W. The role of bacterial biofilms and surfasse componentes in plant-baterial association. **Journal Molecular Science**, Rio Curto, v. 14, n. 8, p.15838-15859, 2013.

BLOMME, G.; DITA, M.; JACOBSEN, K. S.; VICENTE, L. P.; MOLINA, A.; OCIMATI, W.; POUSSIER, S.; PRIOR, P. Bacterial diseases of bananas and enset:

current state of knowledge and integrated approaches toward sustainable management. **Frontiers in Plant Science**, New York, v. 8, n. 1290 p. 1:11, 2017.

BUDDENHAGEN, I. W.; SEQUEIRA, L.; KELMAN, A. Designation of races in *Pseudomonas solanacearum*. **Phytopathology**, Lancaster, v. 52, n. 7, p. 726, 1962.

CELLIER, G.; MOREAU, A.; CHABIRAND, A.; HOSTACHY, B.; AILLOUD, F.; PRIOR, P. A duplex PCR assay for the detection of *Ralstonia solanacearum* phylotype II strains in *Musa* sp. **PLOS ONE**, California, v. 10, n. 1 p. 1:17, 2015.

COELHO, A. F. S.; VERAS, S. M.; PEREIRA, J. C. R.; GASPAROTTO, L. **Moko ou murcha bacteriana da bananeira**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 1998. (Embrapa Amazônia Ocidental. Instruções Técnicas, 11) v. 5, n. 11 p. 1-3.

COELHO NETTO, R. A.; PEREIRA, B. G.; NODA, H.; BOEHER, B. Murcha bacteriana no estado do Amazonas, Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 4, p. 21-27, 2004.

CORDEIRO, Z. J. M. (Org.). **Banana: fitossanidade**. Brasília: Embrapa para transferência de Tecnologia, 2000. (Frutas do Brasil, 8). Disponível em: <<http://www.frutvasf.univasf.edu.br/images/banana1.pdf>>. Acesso em: 01 fev. 2022.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; HADDAD, F. Doenças fúngicas e bacterianas. In: FERREIRA, C. F.; SILVA, S. D. O.; AMORIM, E. P.; SEREJO, J. A. S. (Ed.). **O agronegócio da banana**. Brasília: Embrapa, 2016. p. 545-576.

CORDEIRO, Z. C. M.; KIMATI, H. Doenças da bananeira (*Musa* sp.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; RESENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, p. 112-136.

COMEX STAT – Comércio Exterior do Brasil – **Exportação e importação geral**. 2020. Disponível em: <<http://comexstat.mdic.gov.br/pt/geral/48779>>. Acesso em: 28 jan. 2022.

COMEX STAT – Comércio Exterior do Brasil – **Exportação e importação geral**. 2021. Disponível em: <<http://comexstat.mdic.gov.br/pt/geral/48781>>. Acesso em: 30 jan. 2022.

DANTAS, J. L. L.; SOARES FILHO, W. S. Classificação botânica, origem e evolução. In: CORDEIRO, J. M. (Org.). **Banana produção: Aspectos técnicos**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia (Frutas do Brasil, 1), 2000. p. 142.

DANTAS, L. L.; SHEPHERD, K.; SILVA, S. O.; SOARES FILHO, W. S. Classificação botânica, origem, evolução e distribuição geográfica. In: ALVES, E. J. (Org.). **A cultura da bananeira: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**. Brasília: Embrapa SPI, 1997. 587 p.

DARWIN, C. **A origem das espécies**. 3ª ed. São Paulo: Editora Martin Claret. Tradução. 1859 [2004].

EMBRAPA, **Semiárido: Sistema de Produção de Bananeira Irrigada**, 2004. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/110622/1/Sistema-de-Producao-da-Bananeira-Irrigada.pdf>>. Acesso em 03 fev. 2022.

EMBRAPA, **Mandioca e fruticultura: Tabelas produção de banana**. 2019. Disponível em: <http://www.cnpmf.embrapa.br/Base_de_Dados/index_pdf/dados/brasil/banana_b1_banana.pdf>. Acesso em: 28 jan. 2022.

FAO, Banana Statistical Compendium. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Rome, p. 01-17, 2020. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/cb0466en/CB0466EN.pdf>>. Acesso em: 18 jan. 2022

FAO, Banana Market Review, 2019. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, Rome, p. 1-16, 2020. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/ca7567en/ca7567en.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2022.

FANCELLI, M. **Cultivo da banana para o estado do Amazonas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2003. 4 p. (Sistema de produção, 6). Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Banana/BananaAmazonas/index.htm>>. Acesso em: 11 jan. 2022.

FEGAN, M.; PRIOR, P. Diverse members of the *Ralstonia solanacearum* species complex cause bacterial wilt of banana. **Australasian Plant Pathology**, Rockhampton, v. 35, n. 2, p. 93-101, 2006.

FEGAN, M.; PRIOR, P. How complex is the *Ralstonia T M. balbisiana* Colla *solanacearum* species complex? In: ALLEN, C.; PRIOR, P.; HAYWARD, A. C. **Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex**. St Paul: APS Press, 2005. p. 449-461.

FERNANDES, C.F. **Doenças da bananicultura**: Moko da bananeira. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2005. (Embrapa Rondônia. Circular Técnica, 77). Disponível: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/859432/1/ct-77mokodabananeira.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2022.

FRENCH, E. R.; SEQUEIRA, L. Strains of *Pseudomonas solanacearum* from Central and South America: a comparative study. **Phytopathology**, St. Paul, v. 60, p. 506-512, 1970.

GENIN, S.; BOUCHER, C. Lessons learned from the genome analysis of *Ralstonia solanacearum*. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 42, p. 107-134, 2004.

GENIN, S.; DENNY, T. P. Pathogenomics of the *Ralstonia solanacearum* species complex. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v. 50, p. 67-89, 2012.

GHATAK, A. Evolution and adaptation in phytopathosystems. In: GHATAK, A.; ANSAR, M. (eds.). **The phytpathogen: evolution and adaptation**. New Jersey: Apple Academic Press, 2017. p. 4-20.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. 2. ed. Jaguariúna: EMBRAPA-CPMA, 2002. 78 p.

GUTARRA, L.; HERRERA, J.; FERNANDEZ, E.; KREUZE, J.; LINDQVIST-KREUZE, H. Diversity, pathogenicity, and current occurrence of bacterial wilt bacterium *Ralstonia solanacearum* in Peru. **Frontiers in Plant Science**, Lima-, v. 8, p. 1-12, 2017.

HAYWARD A. C; The hosts of *Pseudomonas solanacearum*. In: Hayward AC and Hartman GL (Eds.). **Bacterial wilt the disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum***. Wallingford: CAB International, 1994. p 9-24.

HARTEVELD, D. O. C.; AKINSANMI, O. A.; BECKER, M. F.; DRENT, A. Comparative fitness of *Alternaria* species causing leaf blotch and fruit spot on apple in Australia. **Australasian Plant Pathology**, Canberra, v. 43, n. 5, p. 495-501, 2014.

HE, L. Y.; KELMAN, A.; SEQUEIRA, L. Characteristics of strains of *Pseudomonas solanacearum*. **Plant Disease**, St Paul, v. 67, n. 12, p. 1357-1361, 1983.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **Levantamento da produção agrícola brasileira**, 2020. Disponível em:

<<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618#resultado>>. Acesso em: 30 jan. 2022.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **Censo agropecuário 2017**: Sistema IBGE de recuperação automática, 2017. Disponível em:

<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/censo-agropecuario/censo-agropecuario-2017>.

Acesso em: 30 jan. 2022.

KADO, C. **Plant bacteriology**. Saint Paul: APS Press, 2010. 336 p.

KELMAN, A. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 44, n. 12, p. 693-695, 1954.

LI, Y.; FENG, J.; LIU, H.; WANG, L.; HSIANG, T.; LI, X.; HUANG, J. Genetic diversity and pathogenicity of *Ralstonia solanacearum* causing tobacco bacterial wilt in China. **Plant Disease**, St. Paul, v. 100, n. 7, p. 1288-1296, 2016.

LIU, Y.; WU, D.; LIU, Q.; ZHANG, S.; TANG, Y.; JIANG, G.; LI, S.; DING, W. The sequevar distribution of *Ralstonia solanacearum* in tobacco-growing zones of China is structured by elevation. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 147, n. 3, p. 541-551, 2017.

LOPES, C. A.; ROSSATO, M. History and Status of Selected Hosts of the *Ralstonia solanacearum* Species Complex Causing Bacterial Wilt in Brazil. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 9, p. 1228, 2018.

LOPES C.A. **Murcha bacteriana ou murchadeira** – Uma inimiga do tomateiro em climas quentes. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2009. 8 p. (Circular Técnica, 67.)

Available at: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/103071/1/cot-67.pdf>.
 Accessed on Jan. 23, 2022

LEWIN, A.Y.; WEIGELT, C.B.; EMREY J.D. Adaptation and Selection in Strategy and Change. In: POOLE, M.S.; VEN A.H.V. **Handbook of organizational change and innovation**. Oxford University Press, Oxford 2004. v. 1 Cap 5, p. 108-160.

LOWE-POWER, T.; KHOKHANI, D.; ALLEN, C.; How *Ralstonia solanacearum* exploits and thrives in the flowing plant xylem environment. **Trend in Microbiology**, Madison, v. 10, n. 11, p. 929-942, 2018.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D. H.; STHAL, D. A. **Microbiologia de Brock**. 14ed. Porto Alegre 2016. 987 p.

MANSFIELD J.; GENIN S.; MAGORI S.; CITOVSKY V.; MSRIARIYANUN M.; RONALD P.; DOW M.; VERDIER V.; BEER S. Top 10 plant pathogenenic bacteria in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, North Bangkok - Bangkok. v. 13, n. 6, p. 614-629, 2012.

MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento) **Instrução Normativa N° 52**, de 20 de novembro de 2007. Disponível em: <https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=77079>. Acesso em: 06 jan. 2022

MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento). **Instrução Normativa N° 17**, de 27 de maio de 2009. Disponível em: <[https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-mapa-n-17-de-27-de-maio-de2009,1142.html#:~:text=Regulamenta%20o%20s%20crit%C3%A9rios%20para%20reconhecimento,Moko%20da%20Bananeira%20\(SMR%20Moko](https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-mapa-n-17-de-27-de-maio-de2009,1142.html#:~:text=Regulamenta%20o%20s%20crit%C3%A9rios%20para%20reconhecimento,Moko%20da%20Bananeira%20(SMR%20Moko)>. Acesso em: 06 jan. 2022.

MAPA. (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento) **Instrução Normativa N° 38**, de 01 outubro de 2018. Disponível em: <https://www.in.gov.br/materia/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/43461167/do1-2018-10-02-instrucao-normativa-n-38-de-1-de-outubro-de-2018-43461024/>>. Acesso em: 06 jan. 2022.

MEHAN, V. K.; LIAO, B. S.; TAN, Y. J.; ROBINSON-SMITH, A.; MCDONALD, D.; HAYWARD, A. C. **Bacterial wilt of groundnut**. Patancheru: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, 1994. 25 p. (ICRISAT Information Bulletin, 35).

MILGROOM, M.G. **Population biology of plant pathogens**: genetics, ecology, and Evolution. St. Paul: APS Press, 2015. 399 p.

MOREIRA, R. S.; CORDEIRO, Z. J. M. A. Bananicultura: um negócio sustentável. In: REUNIÃO INTERNACIONAL ACORBAT, 17. 2006. Joinville. **Anais [...]** Joinville: ACORBAT/ACAFRUTA, 2006. v. 1, p. 49-82.

NELSON, R.R. The evolution of parasitic fitness. In HORSFALL, J.G, COWLING, E.B (Eds). Plant disease: an advanced treatise. How pathogens induce disease. **Academic Press**, New York, v.1, p. 23-46. 1979

OBRADOR-SÁNCHEZ, J. Á.; TZEC-SIMÁ, M.; HIGUERACIAPARA, I.; CANTO-CANCHÉ, B. Genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains from Mexico associated with Moko disease. **European Journal of Plant Pathology**, Netherlands, v. 149, p. 817-830, 2017.

OLIVEIRA, Y. M. **Diversidade de espécies do complexo *Ralstonia solanacearum* no estado de Alagoas**. 2020, 54f. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) - Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2020.

PAIS, A. K. L. **Sequenciamento e genômica comparativa de isolados de *Ralstonia solanacearum* ecotipo Moko**. 2020, 89 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2020.

PEREIRA, J. C. R.; GASPAROTTO, L.; COELHO, A. F. S.; VÉRAS, S. M. **Doenças da bananeira no Estado do Amazonas**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2003. 12 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Circular Técnica, 20). Available at: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/676206/1/circotec20.pdf>. Acesso em: 25 jan. 2022.

PINHEIRO, C. R.; AMORIM, J. A.; DINIZ, L. E. C.; SILVA, A. M. F.; TALAMINI, V.; SOUZA JÚNIOR, M. T.; Diversidade genética de isolados de *Ralstonia*

solanacearum e caracterização molecular quanto a filotipos e sequevares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 6, p. 593-602, 2011.

RAVELOMANANTSOA, S.; VERNIÈRE, C.; RIEUX, A.; COSTET, L.; CHIROLEU, F.; ARRIBAT, S.; CELLIER, G.; PRUVOST, O.; POUSSIER, S.; ROBÈNE, I.; GUÉRIN, F.; PRIOR, P. Molecular epidemiology of bacterial wilt in the Madagascar highlands caused by Andean (phylotype IIB-1) and African (phylotype III) brown rot strains of the *Ralstonia solanacearum* species complex. **Frontiers in Plant Science**, Saint-Pierre, v. 8, n. 2258, p. 1-17, 2018.

RIDLEY, M. **Evolution**. 3.ed. Oxford: Blackell, 2004. 784 p.

ROSA, A. J. M.; MOREIRA, J. R. Mecanismos de evolução. In: MOREIRA J.; R.; MEDEIROS M. B. **O legado de Darwin e a pesquisa agropecuária**. 2 ed. Brasília, Embrapa, 2014. Cap. III, p. 116-154.

SADDLER G.S. *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Mycopathologia**, Dordrecht, v. 128, p. 47-48, 1994.

SAFNI, I.; CLEENWERCK, I.; DE VOS, P.; FEGAN, M.; SLY, L.; KAPPLER, U. Polyphasic taxonomic revision of the *Ralstonia solanacearum* species complex: proposal to emend the descriptions of *R. solanacearum* and *R. syzygii* and reclassify current *R. syzygii* strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii*, *R. solanacearum* phylotype IV strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *indonesiensis* subsp. nov., banana blood disease bacterium strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *celebesensis* subsp. nov. and *R. solanacearum* phylotypes I and III strains as *Ralstonia pseudosolanacearum* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 64, n. 9, p. 3087-103, 2014.

SANTIAGO, T. R.; LOPES, A. C.; MIZUBUTI, E. S. G. Diversidade e variabilidade de *Ralstonia* spp. In: GAMA, M. S.; NICOLI, A.; GUIMARÃES, L. M. P.; LOPES, U. P.; MICHEREFF, S. J. (Eds). **Estado da arte em fitobactologia**. Recife: UFRPE, 2016. p. 243-255.

SANTIAGO, T. R.; LOPES, C. A.; CAETANO-ANOLLOES, G.; MIZUBUTI, E. S. G. Phylotype and sequevar variability of *Ralstonia solanacearum* in Brazil, an ancient centre of diversity of the pathogen. **Plant Pathology**, London, v. 66, p. 383-392, 2017.

SALOMÃO, L. C.; SIQUEIRA, D. L. **Cultivo da bananeira**. Viçosa: UFV, 2015. 109 p.

SEQUEIRA, L. Bacterial wilt: The missing element in international banana improvement programs. In: PRIOR, P.; ALLEN, C.; ELPHINSTONE, J. (Eds.) **Bacterial wilt disease: Molecular and ecological aspects**. Berlin: Springer.1998. p. 6-14.

SHE, X.; YU, L.; LAN, G.; TANG, Y.; HE, Z. Identification and genetic characterization of *Ralstonia solanacearum* species complex isolates from Cucurbita maxima in China. **Frontiers in Plant Science**, Guangdong, v. 8, p. 1794, 2017.

SILVA, P. H. **Adaptabilidade comparativa de *Ralstonia pseudosolanacearum* e *R. solanacearum* em solanáceas no estado de Pernambuco**. 2020, 90 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2020.

SILVA, J. R. **Diversidade de isolados de *Ralstonia solanacearum* das regiões Norte e Nordeste do Brasil**. 2014, 48 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2014.

SILVA, J. R. **Diversidade e estrutura de populações de *Ralstonia solanacearum* ecotipo moko nos estados do Amazonas e Sergipe e sequenciamento completo de isolados da sequevar IIA-53**. 2018, 81 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2018.

SILVA, M. T.; SANTOS, C. M. D. Uma análise histórica sobre a seleção natural de Darwin – Wallace à síntese estendida da evolução. **Amazônia: Revista de Educação em Ciências e Matemática**, Belém, v. 22, n. 11, p. 46-61, 2015.

SMITH, E. F. **A bacterial disease of tomato, pepper, eggplant and Irish potato (*Bacillus solanacearum* nov. sp.)**. United States: Department of agriculture, Division of Vegetable Physiology and Pathology Bulletin, 1896. p. 1-28. (Bulletin No. 12)

SOGUILON, C. E.; MAGNAYE, L.V.; NATURAL, M. P. **Bugtok disease of banana**. 1995. Disponível em:

https://www.bioversityinternational.org/fileadmin/_migrated/uploads/tx_news/Bugtok_i sease_of_banana_701.pdf. Acesso em: 02 jan. 2022.

TOKESHI, H.; DUARTE, M. R. L. Moko da bananeira no Território Federal do Amapá. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 9, n. 3, p. 224-229, 1976.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C L. **Microbiologia**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 962 p.

TRINDADE, D. R.; TABOSA, S. A.; LEITE, M. A. N.; POLTRONIERI, L. S.; DUARTE, M. L. R. **Doenças da bananeira no Estado do Pará**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2002. 8p. (Circular Técnica, 27). Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/405770/1/Circ.tec.27.pdf>>. Acesso em: 01 jan. 2022.

VIEIRA JUNIOR, J. R; FERNANDES C. F.; ANTUNES JÚNIOR, H.; SILVA, D. S.; LIMA, R. F.; FERNANDES NETO, A.; SILVA, R. B. da. **Levantamento da ocorrência de moko-da-bananeira em Rondônia**: primeira atualização. 1. ed. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2010. 6 p. (Comunicado Técnico, 361). Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/46857/1/cot361-mokodobananeira.pdf>>. Acesso em: 14 jan. 2022.

VANEECHOUTTE, M.; KAMPFER, P.; DE BAERE, T.; FALSSEN, E.; VERSCHRAEGEN, G. Wautersia gen. nov., a novel genus accommodating the phylogenetic lineage including *Ralstonia eutropha* and related species, and proposal of *Ralstonia* (*Pseudomonas*) *syzygii* (Roberts *et al.* 1990) comb. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, England, v. 54, n. 2, p. 317-327, 2004.

WANG, H.C.; GUO H.; CAI L.; CAI L.T.; GUO Y.S.; DIND W.; Effect of temperature on phenotype characterization of *Ralstonia solanacearum* from tobacco. **The Canadian Journal of Plant Pathology**, Canadian, v. 42, n. 2, p. 164-181, 2019.

WICKER, E.; LEFEUVRE, P.; CAMBIAIRE, J-C.; LEMAIRE, C.; POUSSIER, S.; PRIOR, P. Contrasting recombination patterns and demographic histories of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum* inferred from MLSA. **International Society Microbial Ecology Journal**, London, v. 6, n. 5. p. 961-974, 2012.

YABUUCHI, E.; KOSAKO, Y.; OYAIZU, H.; YANO, I.; HOTTA, H.; HASHIMOTO, Y.; EZAKI, T.; ARAKAWA, M. Transfer of two *Burkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. nov. – Proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Doudoroff, 1973) com nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith, 1896) com nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis, 1969) comb. nov. **Microbiology and Immunology**, Tokyo, v. 39, n. 11, p.897-904, 1995

YABUUCHI, E.; KOSARO, Y.; OYIZU, H.; YANO, I.; HOTTA, H.; HASHIMOTO, Y.; EZAKI, T.; ARAKAWA, M. Proposal of *Burkholderia* gen. nov. and transfer of seven species of the genus *Pseudomonas* homology group II to the new genus, with the type species *Burkholderia cepacia* (Palleroni and Holmes, 1981) comb. nov. **Microbiology and Immunology**, Tokyo, v. 36, n. 12, p. 1251-1275, 1992.

YIN W, WANG Y, LIU L, HE J Biofilms: The Mirobial “Proective Clothig” in Extreme Environments. **International Journal os Molecular Sciences**, Whan - China, v. 14, n. 13423, p. 20, 2019.

ZHANG, Y., QIU, S. Análise filogenômica do gênero *Ralstonia* com base em 686 genes de cópia única. **Antonie van Leeuwenhoek**, Wageningen, v. 109, n. 1, p. 71-82, 2016.

CAPÍTULO II

**Adaptabilidade comparativa de sequevares de
Ralstonia solanacearum ecotipo Moko associadas
a murcha e síndrome Sergipe no Brasil**

Adaptabilidade comparativa de isolados de *Ralstonia solanacearum* ecotipo Moko associadas a murcha e síndrome Sergipe no Brasil

Wallison Oliveira Vieira • Greecy Mirian Rodrigues Albuquerque • Taciana Santos Lopes • José da Conceição de Messias • Marcos Aurélio Siqueira da Gama
Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco • **Adriano Marcio Freire da Silva**, Estação Experimental de Carpina, Universidade Federal Rural de Pernambuco • **Elineide Barbosa de Souza**, Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP 52171-900, Recife-PE, Brasil.

RESUMO

A bananicultura apresenta grande importância para o Brasil e um dos fatores que limita a produção nas regiões Norte e Nordeste é o Moko da bananeira. Essa doença é causada pela bactéria *Ralstonia solanacearum*, filotipo II (IIA e IIB) e sequevares IIA-6, IIA-24, IIA-41, IIA-53, IIB-4 e IIB-25, sendo os isolados denominados de ecotipo Moko. Além dos sintomas típicos do Moko que são observados em bananeiras na região Norte do país, existe a ocorrência de sintomas atípicos relacionados exclusivamente a sequevar IIA-53, que foram assinalados apenas na região Nordeste, sendo a doença denominada de síndrome Sergipe. Para entender esses dois grupos, foi realizada a comparação da adaptabilidade entre as sequevares IIA-24 e IIA-53 em relação a parâmetros fisiológicos, ecológicos e patogênicos. As duas sequevares de *R. solanacearum* apresentaram adaptabilidade fisiológica similar, crescendo nas mesmas faixas de temperaturas (10 a 45°C), com temperatura ótima em torno de 35°C, níveis de pH (3,5 a 9,5) e concentrações de sal (0,5 a 5%). Porém, a IIA-24 apresenta maior crescimento em diferentes pHs (4,5 a 8,5) e a IIA-53 apresenta maior tolerância a 5% de NaCl. As sequevares foram capazes de produzir biofilme, com isolados classificados como moderados ou forte formadores, mas não produziram bacteriocinas. Plantas de tomateiro, batata inglesa e helicônias, mas não de amendoim, foram infectadas pelas duas sequevares que também não diferiram quanto a agressividade a bananeira. Com base nos resultados, concluímos que as sequevares IIA-24 e IIA-53 de *R. solanacearum* ecotipo Moko apresentam

comportamento adaptativo similar quanto aos parâmetros fisiológicos, ecológicos e patogênicos analisados, os quais não possibilitaram relacionar a ocorrência das sequevares nas regiões do Brasil.

Palavras-chave: *Musa* sp., Moko da bananeira, fisiologia, biofilme, gama de hospedeiros, agressividade.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o quarto maior produtor de banana do mundo, sendo a bananeira cultivada em todas as regiões do país. É uma fruta de grande importância como fonte de alimento para a população, que absorve 90% da produção (COMEXSTAT 2020; FAO 2020). Um dos fatores que contribui para a queda da produção é a doença Moko da bananeira, que tem alto poder destrutivo e pode levar a perda total do bananal (Coelho et al. 1998).

O Moko da bananeira é causado por *Ralsonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al., filotipo II, uma bactéria habitante do solo e de difícil controle (Wicker et al. 2007). Em bananeiras, os isolados de *R. solanacearum* são denominados de ecotipo Moko, assim chamados por serem altamente adaptados e intimamente relacionados com *Musa* sp. (Ailloud et al. 2016). Em virtude da sua grande ameaça a bananicultura brasileira, essa bactéria é classificada como praga quarentenária presente (MAPA 2009), restrita a estados da região Norte (Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia e Roraima) e Nordeste (Alagoas e Sergipe) (MAPA 2018). Na região amazônica, é considerada fator limitante a produção (Coelho Netto et al. 2004).

As espécies *R. solanacearum*, *R. pseudosolanacearum* e *R. syzygii* (subsp. *indonesiensis*, *syzygii* e *celebesensis*) compõem o complexo *R. solanacearum* (Safni et al. 2014). Elas apresentam variação na gama de hospedeiros, origem geográfica, patogenicidade e propriedades fisiológicas (Denny 2006). Devido a essa diversidade, os isolados são classificados quanto a origem geográfica em quatro filotipos, baseado na análise de sequências dos genes da endoglucanase (*egl*) ou reparo de DNA (*multS*), os quais estão diretamente correlacionados as espécies do complexo: *R. pseudosolanacearum* (filótipo I - Ásia e filotipo III - África e ilhas vizinhas), *R. solanacearum* (filótipo II - Américas) e *R. syzygi* (filótipo IV - Indonésia, Austrália e Japão) (Fegan and Prior 2005; Genin and Denny 2012). Acredita-se que o complexo *R. solanacearum* tenha sido originado na Indonésia/Austrália e que o filotipo II tenha se

originado na região que corresponde ao Brasil, no continente americano, com posterior diferenciação em filotipo IIA e IIB (Wicker et al. 2012). Além disso, dentro de cada filotipo os isolados são agrupados em sequevares, que exibirem variações de $\leq 1\%$ nas sequências do gene *egl* (Fegan and Prior 2005). Até o momento já foram relatadas sequevares associadas às três espécies de *Ralstonia* (Li et al. 2016; Gutarra et al. 2017; Liu et al. 2017; Santiago et al. 2017; She et al. 2017; Ravelomanantsoa et al. 2018; Albuquerque et al. 2021). Os isolados de *R. solanacearum* do ecotipo Moko pertencem ao filotipo II e as sequevares IIA-6, IIA-24, IIA-41, IIA-53, IIB- 3, IIB-4 e IIB-25 (Fegan and Prior 2005; Albuquerque et al. 2014). No Brasil não foi encontrada a sequevar IIB-3 (Albuquerque et al. 2014).

Os sintomas típicos de Moko incluem amarelecimento, murcha e necrose das folhas internas, causado por uma infecção que começa nos rizomas e se move em direção ao pseudocaule, com a colonização dos vasos do xilema pela bactéria (Albuquerque et al. 2014). Em cachos de plantas infectadas, observa-se o amadurecimento prematuro de frutos, com uma podridão seca, firme e de coloração parda (Pereira et al. 2003; Agrios 2005; Salomão and Siqueira 2015). No entanto, no Nordeste do Brasil é encontrado um quadro sintomatológico diferente, ocasionado exclusivamente por isolados da sequevar IIA-53. Os sintomas iniciam-se nas inflorescências, provavelmente devido a ação de insetos visitantes, ocasionando necrose e amadurecimento prematuro e desuniforme de frutos que mostram internamente podridão seca e necrose externa. A doença é denominada de síndrome Sergipe (*Sergipe facies*) (Albuquerque et al. 2014).

Estudos precisam ser realizados para entender as diferenças na adaptabilidade de isolados dessas sequevares que possam estar relacionadas a ocorrência em determinada região do Brasil e ao quadro sintomatológico da doença.

A capacidade de adaptação de um fitopatógeno ao ambiente que está inserido se deve a sua capacidade de responder aos estresses bióticos e abióticos, com o lançamento de mecanismos para sobreviver e sobressair no ambiente, tais como competição e capacidade de colonização de outros hospedeiros (Balodi et al. 2017). Um fitopatógeno fisiologicamente adaptado consegue se estabelecer em um determinado ambiente por um longo período de tempo, nas condições típicas desse local (Nelson 1979). Dessa forma, este trabalho teve como objetivo comparar a adaptabilidade fisiológica das sequevares causadoras de sintomas típicos de Moko (IIA-24) e síndrome Sergipe (IIA-53) em relação ao crescimento saprofítico da bactéria em diferentes condições ambientais (temperatura, pH e salinidade); adaptabilidade ecológica pela formação de biofilme e produção de

bacteriocinas; bem como a adaptabilidade patogênica em relação a patogenicidade a diferentes espécies de plantas e agressividade a bananeira, visando relacionar a ocorrência das sequevares IIA-24 e IIA-53, respectivamente nas regiões Norte e Nordeste do Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Isolados de *Ralstonia solanacearum*

Os isolados de *R. solanacearum* ecotipo Moko utilizados no estudo pertencem a Coleção de Culturas Rosa Mariano (CCRM) do Laboratório de Fitobacteriologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Os isolados da sequevar IIA-24 causam sintomas típicos de Moko e foram obtidos de plantas de bananeira em áreas de plantio da região Norte, enquanto os isolados da sequevar IIA-53, causam a síndrome Sergipe, e foram obtidos de bananeiras no Nordeste do Brasil. As sequevares IIA-24 e IIA-53 foram selecionadas pela representatividade, ocorrência e importância nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, respectivamente. Os isolados encontravam-se preservados em água destilada e esterilizada (ADE) e foram reativados em meio de cultura Kelman (18 g ágar, 1 g caseína hidrolisada, 10 g peptona, 5 g glicose L⁻¹) (Kelman 1954) adicionado de cloreto de 2, 3, 5-trifenil tetrazólio (TTC).

Para a escolha dos isolados de *R. solanacearum*, foi realizado o teste de patogenicidade em mudas de bananeiras com 30 isolados da sequevar IIA-24 e 20 isolados da sequevar IIA-53, que apresentaram características culturais típicas da bactéria em meio de cultura Kelman com TTC. As mudas de clones de bananeira da variedade “Prata anã” propagados *in vitro*, na fase de pré-aclimatação (15 cm de altura), foram transplantadas para vasos de poliestireno com capacidade para 400 mL contendo substrato orgânico vegetal Basaplant®. As mudas foram mantidas em casa de vegetação, irrigadas por subirrigação e na terceira semana após o plantio receberam adubação foliar a base de potássio, nitrogênio e fosforo, em concentração recomendada na literatura para essa cultura.

As mudas com quatro semanas após o transplântio foram inoculadas com 2 ml de suspensão bacteriana de *R. solanacearum* na concentração de 5x10⁹ UFC/mL, ajustada em espectrofotômetro modelo 500 M (Analyser, Brasil), pelo método de injeção no pseudocaule (Albuquerque et al. 2014). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições, cada uma constituída por uma planta. As plantas foram avaliadas 30 dias após a inoculação, quanto a presença de murcha e escurecimento dos

vasos do rizoma e pseudocaule. Foi realizado o reisolamento da bactéria das plantas que apresentaram sintomas de Moko, cumprindo os postulados de Koch.

Foram selecionados 8 isolados de cada sequevar (Tabela 1) e repetido o teste de patogenicidade utilizando o método do corte do sistema radicular em semicírculo com deposição de 15 mL da suspensão bacteriana (Felix et al. 2012). Com base na evolução dos sintomas observado neste experimento, foi elaborada uma escala descritiva adaptada de Barrios et al. (2008), com notas variando de 0 a 5, onde: 0= planta sem sintomas; 1= planta sem folhas murchas mas com escurecimento dos vasos do xilema; 2= planta com folhas murchas; 3= planta com folhas murchas e amarelas; 4= planta com folhas necróticas e pseudocaule verde; 5= planta morta (folhas e pseudocaule necróticos) (Figura S1). Em todos os experimentos foram comparadas às sequevares IIA-24 e IIA-53, representadas por 8 isolados cada uma.

2. Crescimento bacteriano em meio de cultura variando temperatura, pH e concentração de NaCl

Com o objetivo de determinar a fisiologia térmica das sequevares de *R. solanacearum*, em tubos de ensaio com 4,5 mL de caldo de cultura Kelman (meio Kelman sem ágar) foi adicionada uma alíquota de 0,5 mL da suspensão bacteriana (5×10^9 UFC mL⁻¹). Os tubos foram incubados em B.O.D (Biochemistry Oxygen Demand) em oito diferentes temperaturas, com variação de 5 graus entre 10°C a 45°C.

Para avaliar o efeito dos níveis de pH sobre o crescimento bacteriano, foi utilizado o caldo de cultura Kelman ajustado com ⁺HCl ou KOH⁻ a 1 M para uma faixa de pH variando de 3,0 a 9,5 em intervalos de 0,5, sendo adicionados 0,5 mL de suspensão bacteriana aos 4,5 mL do meio.

No experimento de salinidade, o caldo de cultura Kelman foi suplementado com NaCl a 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% e 6% (p/v) e 4,5 mL dos meios foram distribuídos em tubos de ensaio e então adicionados 0,5 mL de suspensão bacteriana. Nos experimentos de níveis de pH e concentrações de NaCl os tubos foram mantidos em B.O.D a 32,5°C, temperatura estabelecida a partir das médias de maior crescimento comum para as duas sequevares, observada no experimento de fisiologia térmica *in vitro*.

A avaliação foi realizada após 36 h de incubação dos tubos em B.O.D. pela leitura da absorbância das suspensões em espectrofotômetro em um comprimento de onda de 570 nm (DO₅₇₀) sendo determinada a taxa de crescimento bacteriano mensurada pela diferença entre a densidade óptica inicial (t = 0 h) e final (t = 36 h). A condução dos

experimentos se deu de forma independente para temperatura, pH e NaCl, em delineamento experimental inteiramente casualizado em arranjo fatorial sequevar x Temperatura, pH ou NaCl, sendo cada sequevar representada por oito isolados com quatro repetições (tubos de ensaio) cada.

3. Formação de biofilme

Microplacas de poliestireno, transparentes, com 96 cavidades de fundo plano (Costar 3599 - Corning Inc., Amsterdam, USA) foram utilizadas para avaliar a produção de biofilme de acordo com o protocolo de Trentin et al. (2011) modificado, utilizando o caldo de cultura Kelman. Os poços das placas foram preenchidos com 160 µL do meio, 20 µL de ADE e 40 µL da suspensão bacteriana (5×10^9 UFC mL⁻¹). Como controle negativo foi utilizada ADE substituindo a suspensão bacteriana. Após 36 h a 32,5°C o conteúdo das placas foi removido e fez-se uma tríplice lavagem com solução salina esterilizada (0,9%). Após esse período, as placas foram secas em estufa por 1 h a 60°C, para fixação das células bacterianas remanescentes. Em seguida, a camada de biofilme formada foi corada pela adição de 200 µL de cristal violeta (0,5%) em cada poço, deixando a placas em repouso por 15 min à temperatura ambiente. As placas foram submetidas a uma lavagem com água corrente e batidas sobre papel toalha para retirar o excesso de corante. Os biofilmes foram solubilizados em 200 µL de etanol (99,5%) por 15 min e mensurados em leitor de placa de Elisa (Synergy H1 Microplate Reader, Biotek, USA) em um comprimento de onda de 570 nm (DO₅₇₀). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com oito repetições biológicas por isolado.

A capacidade de formação de biofilme foi determinada de acordo com a proposta de Stepanovic et al. (2000) na qual o controle negativo é a referência inicial, seguindo o parâmetro: $OD \leq OD_c$ = não produtor de biofilme, $OD_c \leq OD \leq (2 \times OD_c)$ = isolado fraco produtor, $(2 \times OD_c) \leq OD \leq (4 \times OD_c)$ = isolado moderado produtor, e $(4 \times OD_c) \leq OD$ = isolado forte produtor, em que OD corresponde à densidade ótica da leitura do isolado e OD_c à densidade ótica do controle negativo.

4. Produção e sensibilidade a bacteriocinas

Para detecção da produção e sensibilidade a bacteriocinas os isolados das sequevares IIA-24 e IIA-53 foram confrontados, utilizando o método de difusão simples em ágar adaptado de Cuppels et al. (1978). Os isolados foram cultivados em tubos de centrifugação tipo Falcon, contendo 9 mL de meio CPG líquido (1 g caseína hidrolisada,

10 g peptona, 10 g glicose L⁻¹) e 1 mL de suspensão bacteriana, em agitação (100 rpm) a temperatura ambiente (30°C ± 0,5°C), durante 72 h. Em seguida, foram submetidos a centrifugação (4500 rpm por 20 min) e o sobrenadante esterilizado por ultrafiltração em filtro millipore 0,22 µm (Kasvi, Brasil). Para avaliar a sensibilidade dos isolados alvos às bacteriocinas produzidas, em placas de Petri de 9 cm de diâmetro foram vertidos 40 mL de uma mistura contendo a suspensão do isolado alvo homogeneizada em proporção 1:600 em meio CPG sólido fundente (± 40°C). Após solidificação do meio, perfurou-se poços de 3,5 mm de diâmetro, nos quais foram depositados 25 µL dos sobrenadantes livres de células dos isolados produtores. Para os controles negativos utilizou-se ADE, para substituir os sobrenadantes. Após 48 h de incubação a 32,5°C, zonas translúcidas, com ausência de crescimento bacteriano ao redor dos poços, indicaram sensibilidade do isolado alvo, qualificando o isolado produtor como positivo (+) para produção de bacteriocinas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições (poços da placa) para cada combinação isolado produtor x isolado alvo.

5. Patogenicidade a diferentes hospedeiros

Foram utilizadas mudas de tomateiros cv. IPA-6, batata inglesa cv. Ágata, helicônia (*Heliconia bihai*) e amendoim cv. BRS Havana. As plantas foram cultivadas em substrato orgânico vegetal Basaplant®. As sementes de tomateiros foram plantadas em sementeiras e transplantadas quinze dias após a brotação; os micro tubérculos de batata foram obtidos de sistema de cultivo por aeroponia e plantados diretamente em vasos de polietileno (400 mL); os rizomas de helicônias foram plantados em vasos de plástico com capacidade de 4 L de substrato; e as sementes de amendoim foram plantadas diretamente nos vasos de polietileno (400 mL).

Para tomateiro, batateira, helicônia e amendoim, a inoculação ocorreu 30 dias após a germinação, brotação, perfilhamento e germinação, respectivamente, pelo método de ferimento das raízes no solo em semicírculo com deposição de 15 mL da suspensão bacteriana a 5 x 10⁹ UFC mL⁻¹ (Felix et al. 2012). As plantas foram mantidas em casa de vegetação com temperatura média de 32°C e umidade relativa média de 85% e irrigadas diariamente pelo método de subirrigação. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado para cada hospedeiro, com quatro repetições (plantas) por isolado. As avaliações foram realizadas 30 dias após a inoculação, sendo considerada interação positiva quando pelo menos 50% das plantas de cada tratamento apresentaram sintoma de murcha bacteriana, com escurecimento dos vasos do xilema após corte transversal do

caule, pseudocaule, rizoma, raiz e/ou tubérculo. Foi realizado o reisolamento da bactéria de plantas sintomáticas e assintomáticas, cumprindo os postulados de Koch.

6. Agressividade a bananeira

Para este experimento, foram adquiridas mudas de bananeiras da variedade Prata anã, pré-aclimatadas, propagadas *in vitro*. As plantas foram mantidas em casa de vegetação com temperatura média de 35°C e umidade relativa média de 84%. O preparo das mudas e a inoculação por fermento de raízes foi realizado conforme descrito no experimento de patogenicidade. As bananeiras foram avaliadas diariamente até completar 30 dias após a inoculação quanto a observação dos sintomas de murcha, determinando-se os componentes epidemiológicos: período de incubação (PI) e incidência da doença (INC). Na última avaliação foi determinada a severidade final da doença (SEVF) com base na escala descritiva descrita anteriormente, com notas variando de 0 a 5 (Figura S1). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições (plantas) para cada isolado.

7. Análises estatísticas

Todos os experimentos foram repetidos para confirmar os resultados. Os valores das duas repetições independentes foram submetidos a análise de homogeneidade das variâncias pelo teste de Levene e nenhuma heterogeneidade foi identificada ($P \leq 0,05$), permitindo o agrupamento dos dados. Os dados dos experimentos de temperatura, pH e NaCl foram submetidos a regressão linear e não-linear, estabelecendo as variáveis de interesse com os modelos de regressão, e os sumários numéricos com o programa TableCurve™ 2D 5.01 (Systat Software Inc., Chicago, EUA). Diferenças significativas entre as duas sequevares foram comparadas pelo teste T. As análises estatísticas do teste de Levene e teste T foram realizadas ao nível de 5% de probabilidade utilizando os softwares Sisvar e Statistix 9, respectivamente.

RESULTADOS

1. Crescimento bacteriano em meio de cultura variando temperatura, pH e concentração de NaCl (%)

O modelo de regressão polinomial de terceiro grau ($y = a + bx + cx^2 + dx^3$) propiciou um excelente ajuste aos dados de crescimento bacteriano nas diferentes temperaturas e pHs (Figura S2- A e B). Para temperatura o R^2 foi de 0,92 (IIA-24) e 0,86 (IIA-53) e para pH,

de 0,92 (IIA-24) e 0,89 (IIA-53). Nessa equação, y representa o crescimento bacteriano, x representa temperatura ou pH, e a , b , c e d são os parâmetros da regressão. A relação de x em função de y resulta na temperatura ótima ou na temperatura crítica para o crescimento bacteriano, bem como no pH ótimo ou crítico. O valor máximo de y nessa relação equivale ao crescimento máximo e mínimo na temperatura ou pH ótimos (Figura S2- A e B).

Todos os isolados de *R. solanacearum* das sequevares IIA-24 e IIA-53 cresceram na faixa de temperatura de 10 a 45°C, com redução de crescimento nos extremos de temperatura. Não foram verificadas diferenças significativas pelo teste de T ($P \leq 0,05$) entre as sequevares em cada temperatura (Figura 1-A), bem como nas temperaturas ótima e crítica e crescimento máximo e mínimo estimados a partir do cálculo das derivadas dos parâmetros das regressões (Tabela 2). A sequevar IIA-24 teve o melhor desempenho do crescimento em 35,03°C, enquanto que a sequevar IIA-53, em 34,90°C, e crescimento máximo de 0,40 e 0,41, respectivamente. A temperatura que mais influenciou na redução do crescimento bacteriano foi de 45°C para sequevar IIA-24 e 42,32°C para sequevar IIA-53 (Tabela 2).

Os isolados das duas sequevares cresceram na amplitude de pH de 3,5 a 9,5, com maior crescimento na faixa de 6,5 a 7,5, diferindo significativamente pelo teste T nos pHs de 4,5 a 8,5 ($P \leq 0,05$), com a sequevar IIA-24 apresentando maior crescimento (Figura 1-B). Com base nos dados da regressão, as sequevares também diferiram quanto ao pH ótimo e crescimento máximo que foi respectivamente de 7,29 e 0,47 (IIA-24) e de 7,35 e 0,34 (IIA-53) (Tabela 2). O pH 3 foi considerado crítico não ocorrendo crescimento bacteriano (Tabela 2).

Para concentrações de NaCl, foi adotado modelo de regressão logística de dose-resposta com três parâmetros [$y = a / (1 + (x/b)^c$)], com ajuste de R^2 de 0,95 e 0,94 para as sequevares IIA-24 e IIA-53, respectivamente. Neste modelo, y representa o crescimento bacteriano, x a concentração de sal adotada, a o crescimento bacteriano máximo e b o percentual de dose resposta que reduz em 50% o crescimento bacteriano (DL 50%) (Figura S2- C). Não foram observadas diferenças significativas ($P \leq 0,05$) no percentual de dose resposta para redução em 50% do crescimento máximo, sendo que para a sequevar IIA-24 a DL₅₀ ocorreu na concentração de 2,39% de NaCl e para IIA-53, em 2,65%. Também não foi observada diferença do crescimento máximo entre as duas sequevares (Tabela 3). O crescimento das duas sequevares foi inversamente proporcional ao aumento da concentração de NaCl (%) entre 0,5% a 5%, não sendo observado

crescimento a 6%. Verificou-se diferença significativa entre os isolados pelo teste T ($P \leq 0,05$) apenas ao 5% de NaCl (Figura 1- C).

2. Biofilme

Isolados de *R. solanacearum* das duas sequevares apresentaram capacidade de formação de biofilme em caldo de cultura Kelman, variando de moderado a forte formador de biofilme. Metade dos isolados da sequevar IIA-24 foram classificados nos dois grupos, enquanto nos da sequevar IIA-53 predominaram isolados com moderada capacidade de formação de biofilme (62,5%).

3. Bacteriocinas

Os isolados da sequevar II-24 não produziram bacteriocinas capazes de inibir o crescimento dos isolados da sequevar IIA-53 e vice-versa, aferida pela ausência de halo de inibição.

4. Patogenicidade a diferentes hospedeiros

Isolados das sequevares IIA-24 e II-53 causaram sintomas em tomateiro, batateira e helicônia. Em plantas de tomateiro, 63% dos isolados da sequevar IIA-24 e 100% dos isolados da sequevar IIA-53 causaram sintomas de murcha e escurecimento dos feixes vasculares; em batateiras, 75% dos isolados das duas sequevares induziram os sintomas da doença; e em helicônias, todos os isolados da sequevar IIA-53 causaram sintomas, em contraste a 88% na sequevar IIA-24. Não foram observados sintomas típicos de murcha bacteriana em amendoim, confirmado pela ausência de colônias da bactéria em meio de cultura Kelman + TTC, após tentativa de reisolamento.

5. Agressividade a bananeira

Todos os isolados das duas sequevares induziram sintomas típicos de Moko em mudas de bananeira da variedade Prata anã, mas não diferiram significativamente quando aos componentes epidemiológicos avaliados pelo teste T ($P \leq 0,05$). O período de incubação da doença foi em torno de 16 dias para as duas sequevares, com incidência de 86,25% e 88,75% e severidade final de 3,26 e 2,68, respectivamente para IIA-24 e IIA-53 (Tabela 4).

DISCUSSÃO

O nosso trabalho permitiu compreender as relações adaptativas entre as sequevares de *R. solanacearum* causadoras de sintomas típicos de Moko (IIA-24) e síndrome Sergipe (IIA-53) em bananeira, mensuradas a partir de parâmetros de adaptabilidades fisiológica, ecológica e patogênica.

As sequevares do ecotipo Moko apresentaram comportamento similar em relação a adaptação as diferentes condições térmicas, com maiores taxas de crescimento entre 30 e 35°C e temperatura ótima de em torno de 35°C. Melhor desempenho nessa temperatura também foi encontrado para isolados de *R. solanacearum* que causam murcha em tabaco (Wang et al., 2019). Entretanto, isolados que promovem murcha em tomateiro apresentaram temperatura ótima de crescimento próximo a 30°C (Singh et al. 2013; Birttner et al. 2016) e isolados que infectam batateira, têm melhor desempenho em temperaturas mais baixas (Maciel et al. 2001), o que mostra a adaptabilidade dos isolados aos hospedeiros e suas condições ambientais de cultivo. A temperatura é uma das variáveis ambientais mais importantes, por interferir na absorção de nutrientes, no crescimento, na sobrevivência e determinar a velocidade das atividades enzimáticas dos microrganismos (Tortora et al. 2017). De maneira geral, *R. solanacearum* apresenta melhor desempenho em temperaturas mais elevadas e nessas condições elas se multiplicam mais rapidamente (Lopes 2009).

As melhores temperaturas de crescimento observadas correspondem as normais climatológicas encontradas nas regiões geográficas de origem das sequevares estudadas. Na região de ocorrência da síndrome Sergipe (IIA-53), no baixo São Francisco, entre os estados de Sergipe e Alagoas, as temperaturas variam entre 21,9°C a 36,7°C (min/max) e nas Mesoregiões Sul e Central amazonenses, onde foram obtidos os isolados que induzem sintomas típicos de Moko (IIA-24), variam entre 26,8°C a 38,0°C (min/max) (INMET 2021). Portanto, verifica-se que as diferenças climáticas entre as regiões Norte e Nordeste não são suficientes para impedir o estabelecimento das duas sequevares nessas regiões, caso o isolamento geográfico venha a ser quebrado, como por exemplo, pelo trânsito de material propagativo infectado.

As duas sequevares de *R. solanacearum* estão adaptadas a uma ampla faixa de pH (3,5 a 9,5), embora a IIA-24 tenha exibido um crescimento superior a IIA-53 nos níveis de 4,5 a 8,5. Ambas apresentaram um maior crescimento entre os pHs de 6,5 a 7,5, o que indica que são predominantemente neutrófilas, por requererem valores próximos a neutralidade para melhor nutrição e crescimento (Saddler 1994). Comportamento

semelhante foi observado em isolados de *R. solanacearum* obtidos de tabaco, em diferentes condições de pH, com maiores taxas de crescimento entre os níveis de 5 a 8 (Wang et al. 2019). O pH 3 não permitiu o crescimento das duas sequevares. Ambientes muito ácidos promovem a desnaturação das enzimas presentes na superfície da parede celular, acidificando o citoplasma, gerando menor taxa de crescimento, aumento da fase lag e redução do transporte iônico (Beales 2004), enquanto que em ambientes com pH próximos a neutralidade ou ligeiramente alcalino são favoráveis para que bactérias causem maiores danos ao hospedeiro (Bedendo 2018). Em estudos da qualidade do solo em área de cultivo de banana Prata anã, no município de Neópolis –SE, foram identificados pHs de 5,8 e 5,9 (Nogueira et al. 2012). Já os solos de Várzeas e Terra firme da região Norte, o valor médio do pH do solo varia entre 4,3 a 6,1 (Campos et al. 2012; Freitas et al. 2015, Moreira et al. 2005), o que mostra que as duas sequevares são bem adaptadas as condições de pH das duas regiões e conseguem sobreviver em ambientes tipicamente ácidos, como várzeas na região Amazônica.

O crescimento das duas sequevares foi inversamente proporcional ao aumento da concentração de NaCl, com crescimento até o nível de 5%, sendo caracterizadas como halofitas. Nessa condição, a sequevar IIA-53 cresceu mais que a IIA-24, o que pode estar associado a exposição da IIA-53 a ambientes com alta salinidade, permitindo maior crescimento quando comparada a sequevar IIA-24. No entanto, as duas sequevares não apresentaram diferença da sensibilidade a concentração de sal capaz de reduzir o crescimento em 50%. A salinidade a 6% foi letal para o crescimento das sequevares, embora Wang et al. (2019) tenham identificado isolados de *R. solanacearum* tolerantes a salinidade de 7% quando cultivados em temperatura de 35°C. O ambiente nestas condições se torna hipertônico, fazendo com que as células bacterianas percam água, através da membrana plasmática, por efeito da pressão osmótica (Tortora et al. 2017).

Solos da região do baixo São Francisco, são mais rasos, menos intemperizados, com manchas das classes Neossolo quartizarênico, Argissolos, Planossolos (CODEVASF 2002), com frequentes casos de áreas que estão sofrendo processo de salinização avançada (Machado et al. 2007; Souza et al. 2021). Enquanto que a maioria dos solos do estado do Amazonas, pertencem a classe dos Latossolos e Argissolos (Moreira et al. 2005; Soares et al. 2016), caracterizados por serem altamente intemperizados, ácidos e com baixa capacidade de troca catiônica (Lima et al. 2006) e com baixos teores de sais (Santos 2018). Diante disso, as sequevares IIA-24 e IIA-53 apresentam condições adaptativas que permitem a sobrevivência de ambas nos solos das regiões Norte e Nordeste onde a

bananeira é cultivada. No entanto, não existem estudos sobre a capacidade de sobrevivência dessas sequevares em diferentes tipos de solos.

A adaptabilidade fisiológica das duas sequevares as permitem tolerar e crescer em diversas condições de temperatura, pH e salinidade e isto pode estar relacionada com a adaptabilidade ecológica, através da capacidade dos isolados em produzir biofilme. O biofilme exerce papel essencial para sobrevivência e contribui para virulência de fitobactérias (Mansfield et al. 2012; Bogino et al. 2013) e, especificamente em *R. solanacearum*, contribui com a aderência e obstrução dos vasos do xilema, permitindo a absorção de nutrientes (Lowe-Power et al. 2018). Em nosso trabalho observamos que isolados das duas sequevares são moderados ou fortes formadores de biofilme, com a sequevar IIA-24 apresentando maior número de isolados fortes formadores. A capacidade se agregar e produzir biofilme permite adaptabilidade ecológica, dessa forma, se isolados da sequevar IIA-24 forem expostos as condições ambientais do Nordeste, é provável que consiga se estabelecer, o mesmo acontece com a sequevar IIA-53 caso seja inserida na região Norte.

R. solanacearum apresenta boa capacidade de produzir bacteriocinas (Cuppels et al. 1978; Coelho Netto et al. 2003; Araujo 2005; Huerta et al. 2015), mas nenhum isolado da sequevar IIA-24 foi capaz de inibir os da sequevar II-53 e vice-versa, mostrando que uma sequevar não tem vantagem competitiva para impedir o estabelecimento da outra na região Norte ou Nordeste pela produção de bacteriocinas.

A capacidade do patógeno causar doença em diferentes hospedeiros indica adaptabilidade patogênica. Apesar da numerosa gama de hospedeiros do complexo *R. solanacearum*, pouco se conhece sobre a capacidade das sequevares IIA-24 e IIA-53 do ecotipo Moko de causarem doenças em outras espécies vegetais. Isolados das sequevares IIA-6, IIB-3 e IIB-4 causadores de Moko foram identificados como patogênicos a batata inglesa e tomateiros (Cellier and Prior 2010). Albuquerque et al. (2014) constataram a sequevar IIA-41 infectando tomateiros e a sequevar IIB-25, batateira, através de inoculação artificial. Existem relatos que uma variante da sequevar IIB-4, não patogênica a banana, denominada de IIB-4NPB, infectando antúrio, cucurbitáceas e solanáceas na Martinica, sendo ela altamente patogênica a tomateiro “Hawaii 7996” (Wicker et al. 2005 e 2007). Os dados da nossa pesquisa mostraram que a maioria dos isolados das sequevares IIA-24 e IIA-53 foi capaz de causar doença em tomateiro, batateira e helicônia, sendo o primeiro relato infectando artificialmente outras culturas além da bananeira. Constatou-

se também que amendoim não faz parte da gama de hospedeiros das sequevares IIA-24 e IIA-53 do ecotipo Moko.

Capacidade de infecção, agressividade e velocidade de colonização do hospedeiro, são importantes características da adaptabilidade patogênica (Leach et al. 2001). As duas sequevares de *R. solanacearum* apresentaram o mesmo comportamento quanto a esses parâmetros em bananeiras, com período de incubação de 16 dias, incidência acima de 86% e severidade entre 2,68 (IIA-24) e 3,26 (IIA-53), indicando alta adaptabilidade a bananeira.

A adaptabilidade envolve um complexo de relações entre patógeno e ambiente, junto a sua capacidade competitiva de se estabelecer, se desenvolver e reproduzir em diferentes condições ambientais, aliada as suas características patogênicas, como agressividade e eficiência nos processos infecciosos (Leach et al. 2001, Ghini, Kimati 2002). É necessário entender os fatores ambientais associados a um indivíduo para se fazer previsões da tolerância ecológica de determinado organismo (Balodi et al. 2017).

Com base nos resultados obtidos, concluímos que as sequevares IIA-24 e IIA-53 apresentam adaptabilidade fisiológica, ecológica e patogênica similares que as permite se estabelecer tanto na região Norte quanto na região Nordeste, não havendo vantagens adaptativas de uma em relação a outra que explique a exclusividade da ocorrência dessas sequevares em regiões distintas do Brasil.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de Mestrado a Wallison Oliveira Vieira. A CBA Sementes, pela concessão de micro tubérculos de batata.

REFERÊNCIAS

Ailloud F, Lowe TL, Robène I, Cruveiller S, Allen C, Prior P (2016). In planta comparative transcriptomics of host-adapted strains of *Ralstonia solanacearum*. *Peerj* 4:15-49

Albuquerque GMR, Santos LA, Felix KCS, Rollemberg CL, Silva AMF, Souza EB, Cellier G, Prior P, Mariano RLR (2014) Moko disease-causing strains of *Ralstonia solanacearum* from Brazil extend known diversity in paraphyletic phylotype II. *Phytopathology* 104:1175-1182

- Albuquerque GMR, Silva AMF, Silva JR, Melo EA, Mariano RLR, Lemos MC, Ferraz E, Souza EB (2021). Sequevar distribution of *Ralstonia spp.* in Solanaceae in the semiarid climate of the Pernambuco state, Brazil. *European Journal of Plant Pathology* 159: 13-25
- Araujo JSPde, Rodrigues R, Ribeiro RLDde, Gonçalves KS, Polidoro JC (2005) Bacteriocin Production by Brazilian isolates of *Ralstonia solanacearum* in vitro. *ISHS Acta Horticulture*. 695:13-320
- Barrios MO, Gaviria PAR, Osorio JGM, Yepes MS (2008) Hospedantes de *Ralstonia solanacearum* en plantaciones de banano y plátano en Colombia, hosts of *Ralstonia solanacearum* on banana and plantain plantations in Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*. 61(2):4518-4526.
- Beales N, Ogbum E, Betts GD (2004) Adaptation of microorganisms to cold temperatures, Weak Acid Preservatives, Low pH, and Osmotic Stress: A review. *Comprehensive Reviews In Food Science and Food Safety* 3:1-20
- Balodi R, Ghatak, LV, Bisht S, Shukla N (2017) Reproductive fitness of fungal phytopathogens: deriving co-evolution of host-pathogen systems. In: Ghatak A, Ansar M (Eds.). *The phytopathogen: evolution and adaptation*. Apple Academic Press, New Jersey. 41-64
- Bedendo IP, Amorim L, Mattos-Jr D (2018) Ambiente e doença. In: Amorim L, Rezende JAM, Bergamin Filho A (eds) *Manual de Fitopatologia*, 5th edn. Agronômica Ceres, Ouro Fino, pp 93-106
- Bogino PC, Oliva MLM de, Giordano W. (2013). The role of bacterial biofilms and surfasse componentes in plant-baterial association. *Journal Molecular Science* 8:15838-15859
- Campos MCCC, Santos LAC, Silva AMP, Mantovanelli BC, Soares MDR (2012), Caracterização física e químicaa de terras pretas arqueológicas e de solos não antropogênicos na região de Manicoré, Amazonas. *Revista Agroambiente* 6:102-109

Cellier G, Prior P (2010). Deciphering phenotypic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains pathogenic to potato. *Phytopathology* 100:1250-1261

CODEVASF – Mapeamento Temático de Uso da Terra no baixo São Francisco (2002). Available at: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=https%3A%2F%2Fcdn.agenciapeixe vivo.org.br%2Fmedia%2F2019%2F06%2FMapeamento-Tem%25C3%25A1tico-de-Uso-da-Terra-no-Baixo-SF.pdf&cflen=1396084&chunk=true> Accessed on January 25, 2022

Coelho Netto RA, Pereira BG, Noda H, Boehr B (2004). Murcha bacteriana no estado do Amazonas, Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 29:21-27

Coelho Netto RA, Pereira BG, Noda H, Boehr B (2003). Caracterização de isolados de *Ralstonia solanacearum* obtidos de tomateiros em várzea e em terra firme, no Estado do Amazonas. *Fitopatologia Brasileira* 28:362-366

Coelho, AFS, Veras SM, Pereira JCR, Gasparotto L. (1998). Moko ou murcha bacteriana da bananeira. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental. (Embrapa Amazônia Ocidental. Instruções Técnicas, 11). Available at: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPAA-200909/2727/1/IT_11_98.pdf Accessed on December 04, 2021

COMEX STAT – Estatísticas de comércio exterior (2021). Available at: <http://comexstat.mdic.gov.br/pt/home>. Accessed on January 12, 2021

Cuppels da, Hanson RS, Kelman A (1978) Isolation and characterization of a 830 bacteriocin produced by *Pseudomonas solanacearum*. *J Gen Microbiol* 109:295-303

Denny TP (2006). Plant pathogenic *Ralstonia* specie. In: Gnanamanikam SS (ed.) *Plant-associated Bacteria*. Dordrecht: Springer Publishing. 573-644

FAO, Banana Market Review 2020. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 2020. p 1-16. Available at:

em:<<http://www.fao.org/3/ca7567en/ca7567en.pdf>>. Accessed on 10 out. 2020

Fegan M, Prior P (2005). How complex is the *Ralstonia solanacearum* species complex.? In Allen C, Prior P, Hayward AC (Eds.) Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex. St. Paul: APS Press, *Phytopathology*. 449-461

Felix KCS, Souza EB, Michereff SJ, Mariano RLR (2012) Survival of *Ralstonia solanacearum* in infected tissues of *Capsicum annuum* and in soils of the state of Pernambuco, Brazil. *Phytoparasitica* 40:53-62

Freitas, JL da, Santos ES das, Oliveira FA (2015) Avaliação de atributos químicos do solo em ambientes de terra firme e várzea no município e Santana, Amapá, Biota Amazônia, 4:27-33

Genin S, Denny TP (2012). Pathogenomics of the *Ralstonia solanacearum* species complex. *Annual Review of Phytopathology* 50: 67– 89Gutarra L, Herrera J, Fernandez E, Kreuze J, Lindqvist-Kreuze H (2017). Diversity, pathogenicity, and current occurrence of bacterial wilt bacterium *Ralstonia solanacearum* in Peru. *Frontiers in Plant Science*. 8: 1-12

Ghini R, Kimati H (2002) Resistência de fungos a fungicidas 2 ed. Jaguariúna: EMBRAPA-CPMA. 78p

Gutarra L, Herrera J, Fernandez E, Kreuze J, Lindqvist-Kreuze H (2017). Diversity, pathogenicity, and current occurrence of bacterial wilt bacterium *Ralstonia solanacearum* in Peru. *Frontiers in Plant Science*. 8:1-12

Huerta AI, Milling A, Allen C (2015) Tropical Strains of *Ralstonia solanacearum* Outcompete Race 3 Biovar 2 Strains at Lowland Tropical Temperatures. *Applied and Environmental Microbiology*. 81: 3542-3551

INMET. Dados históricos 2011 – 2021. Available at:
<https://portal.inmet.gov.br/dadoshistoricos>. Accessed on January 23, 2022

Kelman, A. (1954) The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology*, Saint Paul, 44:693-695

Leach JE, Umesha S, Prasad KS, Nirnjana P (2001) Pathogen fitness penalties as a predictor of durability of disease resistance genes. *Annu Rev Phytopathol* 39:187-224

Li Y, Feng J, Liu H, Wang L, Hsiang T, Li X, Huang J (2016). Genetic diversity and pathogenicity of *Ralstonia solanacearum* causing tobacco bacterial wilt in China *Plant Disease* 100:1288-1296

Lima HN, MELLO JWV, Schaefer CEGR, HER JC, LIMA AMN (2006) Mineralogia e química de três solos de uma toposequência da Bacia Sedimentar do Alto Solimões, Amazônia Ocidental. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 30:59-68

Liu Y, Wu D, Liu Q, Zhang S, Tang Y, Jiang G, Li S, Ding W (2017). The spore distribution of *Ralstonia solanacearum* in tobacco-growing zones of China is structured by elevation. *European Journal of Plant Pathology* 147:541-551

Liu H, Kang Y, Genin S, Schell MA, Denny TP. (2001) Twitching motility of *Ralstonia solanacearum* requires a type IV pilus system. *Journal of Microbiology*. 147:3215-3229

Lopes CA, (2009) Murcha bacteriana ou Marchadeira – Uma inimiga do tomateiro em climas quentes. Brasília: Embrapa Hortaliças (Circular Técnica, 67) 8p. Available at:
<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/103071/1/cot-67.pdf>. Accessed on January 23, 2022

Lowe-Power T, Khokhani D, Allen C, (2018) How *Ralstonia solanacearum* exploits and thrives in the flowing plant xylem environment. *Trends in Microbiology*. 26:929-942

- 603 Machado R, Aguiar Netto AO de, Campeche LFSM, Barros, AC (2007) Efeito da
604 Salinidade em Características Físico-Hídricas e solos Salino-Sodilizados no Perímetro
605 Irrigado Jabiberi-SE. Revista Brasileira de Agricultura Irrigada 1:15-19
606
- 607 Maciel JLN, Duarte V, Silveira JRP, Sand STVDS (2001) Frequência de biovares do
608 *Ralstonia solanacearum* em diferentes cultivares e épocas de cultivo de batata no Rio
609 Grande do Sul. Fitopatologia Brasileira 26:741-744
610
- 611 MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento) (2007). Instrução
612 Normativa N°52, de 20 de novembro de 2007. Avaliabble at:
613 <https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=77079> Accessed on December 22, 2021
614
- 615 MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento) (2009). Instrução
616 Normativa N° 17, de 27 de maio de 2009. Availabble at: [https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-mapa-n-17-de-27-de-maiode2009,1142.html#:~:text=Regulamenta%20os%20crit%C3%A9rios%20para%20reconhecimento,Moko%20da%20Bananeira%20\(SMR%20Moko](https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-mapa-n-17-de-27-de-maiode2009,1142.html#:~:text=Regulamenta%20os%20crit%C3%A9rios%20para%20reconhecimento,Moko%20da%20Bananeira%20(SMR%20Moko). Acsessed on
619 December 03, 2021
620
621
- 622 MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento) (2018). Instrução
623 Normativa N° 38, de 1° de outubro de 2018. Available at: https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/43461167/do1-2018-10-02-instrucao-normativa-n-38-de-1-de-outubro-de-2018-43461024. Accessed on January 03, 2021
626
- 627 Mansfield J, Genin S, Magori S, Citovsky V, MSriariyanun M, Ronald P, Dow M, Verdier
628 V, Beer S (2012) Top 10 plant pathogenenic bactéria in molecular plant pathology.
629 Molecular Plant Pathology 13:614-629
630
- 631 Nelson, RR. The evolution of parasitc fitness. In: Horsfall, JG, Cowling, EB (1979)
632 (Eds). Plant disíase: na advanced tretise. How pathogens induce disease. Academic Press.
633 New York. 23-46
634
- 635 Moreira A, Gonçalves JRP, (2005) Mapas da Distribuição Aproximada da Fertilidade dos
636 Solos do Estado do Amazonas. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental 40:1-21

- Nogueira ED, Costa Jr JIT, Vasconcelos BMC (2012) Atributos químicos do solo sob diferentes coberturas vegetais em áreas do platô de Neópolis-SE. *Scientia Plena* 8:1-8
- Ravelomanantsoa S, Vernière C, Rieux A, Costet L, Chiroleu F, Arribat S, Cellier G, Pruvost O, Poussier S, Robène I, Guérin F, Prior P (2018). Molecular epidemiology of bacterial wilt in the madagascar highlands caused by Andean (phylotype IIB-1) and African (phylotype III) brown rot strains of the *Ralstonia solanacearum* species complex. *Frontiers in Plant Science* 8: 22-58
- Saddler GS (1994) *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, *Mycopathologia*, Dordrecht. 128:47-48
- Safni I, Cleenwerck I, De Vos P, Fegan, M, SLY L, Kappler U (2014). Polyphasic taxonomic revision of the *Ralstonia solanacearum* species complex: proposal to emend the descriptions of *R. solanacearum* and *R. syzygii* and reclassify current *R. syzygii* strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii*, *R. solanacearum* phylotype IV strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *indonesiensis* subsp. nov., banana blood disease bacterium strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *celebesensis* subsp. nov, and *R. solanacearum* phylotypes I and III strains as *Ralstonia pseudosolanacearum* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 64:3087-3103
- Santiago TR, Lopoés CA, Caetano-Anollés G, Mizubuti ES (2017) Phylotype and sequevar variability of *Ralstonia solanacearum* in Brazil, na ancient center of diversity of the pathogen. *Plant Pathol* 66:383-392
- Santos HD dos, Jacomine PKT, Anjos, LHC dos, Oliveira, VA de, Lumbrreras, JF, Coelho MR, Almeida JA de, Araujo Filho JC de, Oliviera JB de, Cunha TJF (2018) Sistema Brasileiro de Classificação de Solos Available in <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1094003>. Accessed on January, 25, 2022

- Schell MA, Roberts DP, Denny TP (1988). Analysis of the *Pseudomonas solanacearum* polygalacturonase encoded by *pglA* and its involvement in phytopathogenicity. *Journal of Bacteriology*. 170:450-4508
- She X, Yu L, Lan G, Tang Y, He Z (2017). Identification and genetic characterization of *Ralstonia solanacearum* species complex isolates from *Cucurbita maxima* in China. *Frontiers in Plant Science* 8:1794
- Singh D, Yadav DK, Sinha S, Choudhry G (2013) Effect of temperature, cultivars, injury of root and inoculums load of *Ralstonia solanacearum* to cause bacterial wilt of tomato. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 47:1474-1583
- Stepanovic S., Vuković D, Dakić I, Savić B, ŠVabić-Vlahović M (2000) A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of Microbiol Methods* 40:175-179
- Soares MDR, Campos MCC, Oliveira IA, Cunha JM, Santos LAC, Fonseca JS, Souza ZM de (2016) Atributos físicos do solo em áreas sob diferentes sistemas de usos na região de Maricoré, AM. *Amanonial Journal of Agricultural and Environmental Sciences* 59:9-15
- Souza OA, Carvalho CMC, Gomes Fo RR, Garcia CAB, Cerqueira ESA, Valnir Jr M, Carvalho LLS de, Saraiva KR, Silva AF (2021) Análise temporal e especial das águas do perímetro irrigado Cotinguiba/Pindoba na região hidrográfica do baixo São Francisco Sergipano, *Research, Society and Development*. 10:1-18
- Tortora, GJ.; Funke, BR.; Case, CL. (2017) Crescimento microbiano, In: Tortora GJ, Funke BR, Case CL, (eds) *Microbiologia*, 12th edn. Artmed, Porto Alegre. pp.149-175
- Trentin D.S., Giordani RB, Zimmer KR, Silva AG, Silva MV, Correia MT, Baumvol IJ, Macedo AJ (2011) Potential of medicinal plants from the Brazilian semi-arid region (Caatinga) against *Staphylococcus epidermidis* planktonic and biofilm lifestyles. *Journal Ethnopharmacology* 137:327-335

- 702 Wang HC, Guo H, Cai L, Cai LT, Guo YS, Dind W (2019) Effect of temperature on
703 phenotype characterization of *Ralstonia solanacearum* from tobacco. The Canadian
704 Journal of Plant Pathology 42:164-181
705
- 706 Wicker E, Grassart L, Coranson-Beaudu R, Mian D, Guilbaud C, Prior P (2005).
707 Emerging strains of *Ralstonia solanacearum* in Martinique (French West Indies): A case
708 study for epidemiology of bacterial wilt. Acta Horticulturae 695:145-152
709
- 710 Wicker E, Grassart L, Coranson – Beaudu R, Mian D, Guilbaud C, Fegan M, Prior P
711 (2007) *Ralstonia solanacearum* strains from Martinique (French West Indies) exhibiting
712 a new pathogenic potential. Applied and Environmental Microbiology 73:6790-6801
713
- 714 Wicker E, Lefeuvre P, Cambiaire JC, Lemaire C, Poussier S, Prior P (2012) Contrasting
715 recombination patterns and demographic histories of the plant pathogen *Ralstonia*
716 *solanacearum* inferred from MLSA. ISME J. 6:96-197
717
- 718 Yin W, Wang Y, Liu L, He J (2019) Biofilms: The Microbial “Proactive Clothig” in
719 Extreme Environments. International Journal of Molecular Sciences 20:3423

Tabela 1- Isolados de *Ralstonia solanacearum* ecotipo Moko das regiões Norte (sequevar IIA-24) e Nordeste (sequevar IIA-53) do Brasil utilizados neste estudo.

Filotipo - Sequevar	Isolado	Origem
IIA-24	CCRMRs270	Manicoré/AM
	CCRMRs280	Manicoré/AM
	CCRMRs281	Manicoré/AM
	CCRMRs333	Coari/AM
	CCRMRs334	Coari/AM
	CCRMRs348	Coari/AM
	CCRMRsB1	Anamã/AM
	CCRMRsB5	Anamã/AM
IIA-53	CCRMUFAL320	Igreja Nova/AL
	CCRMUFAL321	Igreja Nova/AL
	CCRMUFAL232	Igreja Nova/AL
	CCRMUFAL324	Igreja Nova/AL
	CCRMLUFAL404	Igreja Nova/AL
	CCRMLUFAL405	Igreja Nova/AL
	CCRMLUFAL408	Igreja Nova/AL
	CCRMLUFAL419	Igreja Nova/AL

CCRM = Coleção de Culturas Rosa Mariano do Laboratório de Fitobacteriologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil.

Tabela 2- Efeito da temperatura e pH no crescimento das sequevares IIA-24 e IIA-53 de *Ralstonia solanacearum* ecotipo Moko.

Temperatura				
Sequevar	Temperatura ótima (°C) ¹	Crescimento máximo (DO _{570nm}) ¹	Temperatura crítica (°C) ¹	Crescimento mínimo (DO _{570nm}) ¹
IIA-24	35,03 a ²	0,40 a	45,00 a	0,06 a
IIA-53	34,90 a	0,41 a	42,32 a	0,06 a
pH				
Sequevar	pH ótimo ¹	Crescimento maximo ¹ (DO _{570nm}) ¹	pH crítico ¹	Crescimento mínimo (DO _{570nm}) ¹
IIA-24	7,29 a	0,47 b	3 a	0,001 a
IIA-53	7,35 b	0,34 a	3 a	0,001 a

¹ Valores estimados pelo ajuste do modelo de regressão polinomial de terceiro grau ($y=a+bx+cx^2+dx^3$), onde y = crescimento bacteriano, a, b, c, e d = parâmetros da regressão; e x = Temperatura (IIA-24: $y=0,68408609+(-0,1067118)x+0056483366x^2+(-8,0173658e-05)x^3$ $r^2=0,92$, $p>F=0,000$; IIA-53: $y=0,32845168+(-0,055632518)x+0,0034834705x^2+(-5,2982653e-05)x^3$, $r^2=0,86$, $p>F=0,000$) ou pH (IIA-24: $y=0,480547074+(-0,47542523)+0,13064999x^2+(-0,00899876)x^3$ $r^2=0,92$, $p>F=0,000$; IIA-53: $0,58343342+(-0,46820046)+0,11381831x^2+(-0,0074206949)x^3$, $r^2=0,89$

² Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste T ($P \leq 0,05$).

Tabela 3- Efeito da salinidade no crescimento das sequevares IIA-24 e IIA-53 de *Ralstonia solanacearum* ecotipo Moko.

Sequevar	DL ₅₀ (%) ¹	Crescimento máximo (DO _{570nm}) ¹
IIA-24	2,39 a ²	0,95 a
IIA-53	2,65 a	0,92 a

¹DL₅₀ = concentração de NaCl que reduz o crescimento bacteriano máximo pela metade;

² Valores estimados pelo ajuste do modelo de regressão logística de dose-resposta com três parâmetros [y=a/(1+(x/b)^c], onde y = crescimento bacteriano, a, b, c, e d = parâmetros da regressão; e x = concentração de NaCl (IIA-24:y=0.24444234/1+(x2.5247608)^{2.195887}, r²=0,95, p>F=0,000; IIA-53: y=0,25969319/1+(x/2,1053414)^{1,847739}, r² = 0,94, p>F=0,000)

³ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste T (P ≤0,05).

Tabela 4- Agressividade das sequevares IIA-24 e II-53 de *Ralstonia solanacearum* ecotipo Moko a bananeira.

Sequevar	Período de Incubação (dias)	Incidência (%)	Severidade ¹
IIA-24	15,98 a ²	86,25 a	2,688 a
IIA-53	15,55 a	88,75 a	3,262 a

¹ Severidade avaliada com o auxílio de uma escala descritiva, com notas variando de 0 a 5, onde: 0= planta sem sintomas; 1= planta sem folhas murchas mas com escurecimento dos vasos do xilema; 2= planta com folhas murchas; 3= planta com folhas murchas e amarelas; 4= planta com folhas necróticas e pseudocaule verde; 5= planta morta (folhas e pseudocaule necróticos).;

² Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste T ($P \leq 0,05$).

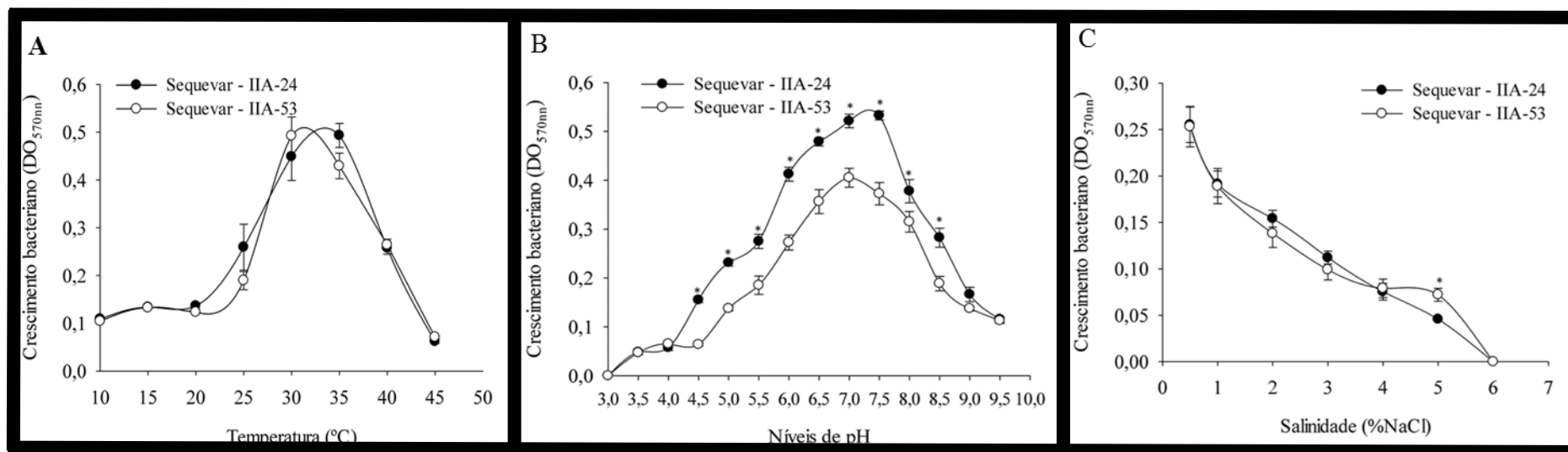


Figura 1- Curvas de crescimento, térmico (A), em diferentes níveis de pH (B) e salinidade (C), de *Ralstonia solanacearum* ecotipo Moko, sequevares IIA-24 e IIA-53. * Diferença significativa pelo teste T

Material suplementar

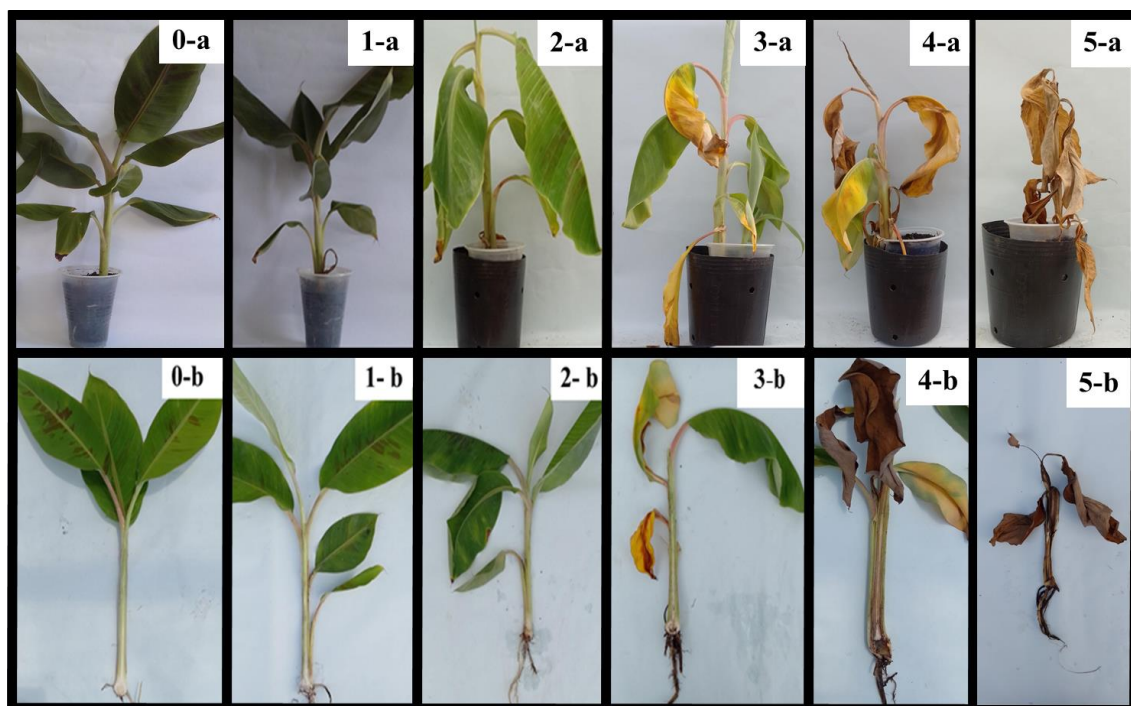


Figura S1 - Escala descritiva para avaliação da severidade do Moko da bananeira, com notas variando de 0 a 5, onde 0= planta sem sintomas; 1= planta sem folhas murchas mas com escurecimento dos vasos do xilema; 2= planta com folhas murchas; 3= planta com folhas murchas e amarelas; 4= planta com folhas necróticas e pseudocaule verde; 5= planta morta (folhas e pseudocaule necróticos). Letra a- sintoma externo; b- corte transversal do pseudocaule e raiz.

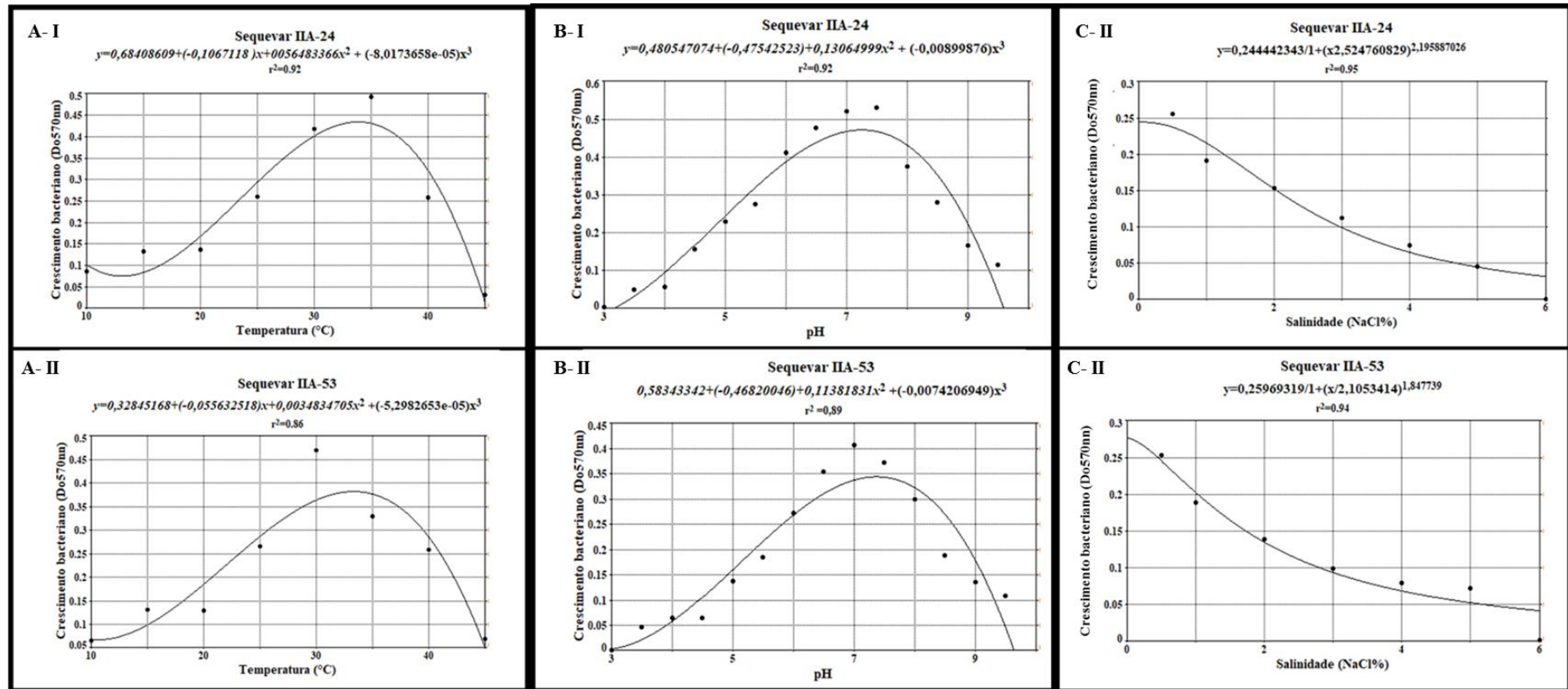


Figura S2 - Curvas de crescimento, térmico (A-I e A-II), em diferentes níveis de pH (B-1 e B-II) e salinidade (C-1 e C-II), de *Ralstonia solanacearum* ecotipo Moko, sequevares IIA-24 e IIA-53, ajustadas pelos modelos de regressão polinomial de terceiro grau $y = a + bx + cx^2 + dx^3$ (A e B) ou regressão logístico linear de dose resposta $y = a / (1 + (x/b)^c)$ (C)

CONCLUSÕES GERAIS

CONCLUSÕES GERAIS

1. As sequevares IIA-24 e IIA-53 de *Ralstonia solanacearum* apresentam adaptabilidade fisiológica similar, crescendo nas mesmas faixas de temperaturas (10 a 45°C), níveis de pH (3,5 a 9,5) e concentrações de sal (0,5 a 5%). Porém, a IIA-24 apresenta maior crescimento nos pHs de 4,5 a 8,5, e a IIA-53 apresenta maior tolerância a 5% de NaCl.
2. Formação de biofilme em níveis moderados ou fortes é uma característica comum as duas sequevares;
3. A ausência de produção de bacteriocinas pelas sequevares com atividade inibitória indica que uma não tem vantagem competitiva para impedir o estabelecimento da outra, quanto a este parâmetro;
4. Tomateiro, batateira e helicônia, mas não amendoim, fazem parte da gama de hospedeiros das duas sequevares, que são igualmente agressivas a bananeira;
5. As sequevares IIA-24 e IIA-53 de *R. solanacearum* apresentam adaptabilidades fisiológica, ecológica e patogênica similares que as permitem se estabelecer tanto na região Norte quanto na região Nordeste, não havendo vantagens adaptativas de uma em relação a outra, quanto aos parâmetros estudados, que explique a exclusividade da ocorrência dessas sequevares em regiões distintas do Brasil.