

## **Determinação da concentração inibitória mínima de higromicina B para *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* R1 no contexto do desenvolvimento de um protocolo de edição gênica**

Todorov, C. R. M.<sup>2</sup>; Paula, M. F. S. M.<sup>2</sup>; Bastos, L. S.<sup>1,2</sup>; Matos, L. F.<sup>3</sup>; Miller, R. N. G.<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Fitopatologia Universidade de Brasília, Instituto de Ciências Biológicas, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Brasília, DF, Brasil.

<sup>2</sup>Laboratório de Interação Planta-Praga, Departamento de Biologia Celular, Universidade de Brasília, Instituto de Ciências Biológicas, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Brasília, DF, Brasil.

<sup>3</sup>Laboratório de Imunologia Aplicada, Departamento de Biologia Celular, Universidade de Brasília, Instituto de Ciências Biológicas, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Brasília, DF, Brasil.

**Resumo:** A murcha por *Fusarium*, uma doença de grande impacto na produção global de banana (*Musa* spp.), é causada pelo fungo de solo *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* (*Foc*). As diferentes raças fisiológicas do patógeno apresentam especificidade de hospedeiro: a raça 1 (R1) é patogênica para cultivares dos subgrupos Gros Michel (AAA) e de bananas de sobremesa (AAB), como Prata e Silk; a raça 2 infecta cultivares do grupo Bluggoe (ABB) e a raça 4, que é dividida em raça tropical 4 (TR4), que é patogênica a todas as cultivares incluindo o subgrupo Cavendish (AAA), e raça subtropical 4 (STR4), que é capaz de infectar Cavendish apenas em condições de clima subtropical. A R1 foi especialmente destrutiva, sendo responsável pela epidemia que dizimou as plantações de Gros Michel no século XX, levando à substituição dessa cultivar pela resistente Cavendish. No Brasil, *Foc* R1 está amplamente distribuído e ataca variedades como Prata, Maçã, Pacovan e Prata Anã, representando uma ameaça contínua à produção e à sustentabilidade das áreas cultivadas, dada à persistência do patógeno no solo. Estudos sobre a interação *Musa-Foc* vêm sendo realizados há anos, a fim de elucidar os mecanismos de defesa vegetal e de virulência do patógeno. Ferramentas para a edição gênica do patógeno são essenciais para entender a biologia da infecção nessa interação. Nesse contexto, a definição de condições adequadas para a seleção de transformantes é um passo fundamental no estabelecimento de protocolos de transformação e edição gênica. O presente trabalho teve como objetivo determinar a concentração inibitória mínima (CIM) do antibiótico higromicina B para o isolado *Foc* R1 0801, com vistas à utilização deste antibiótico como marcador seletivo em futuros experimentos de transformação gênica. O isolado 0801 foi cultivado em placas de Petri contendo 10 mL de meio BDA incubadas a 28 °C por 11 dias, sem fotoperíodo. Após esse período, conídios foram obtidos por raspagem e filtragem com solução salina 0,9% e gaze. Suspensões de conídios com concentrações de 10<sup>3</sup>, 10<sup>5</sup> e 10<sup>7</sup> mL<sup>-1</sup>

foram inoculadas em meio BDA suplementado com higromicina B nas concentrações de 0, 25, 50, 75 e 100 µg/mL. Após sete dias de cultivo, observou-se completa inibição do crescimento micelial na concentração de 50 µg/mL, estabelecendo este valor como a concentração inibitória mínima para o isolado Foc R1 0801. Esse resultado será aplicado em futuros experimentos de transformação gênica do isolado, nos quais a resistência à higromicina B atuará como marcador de seleção. Além disso, o valor obtido para Foc R1 foi inferior ao previamente relatado para Foc STR4 (isolado 218A), cuja CIM foi de 100 µg/mL, indicando possíveis diferenças fisiológicas e de sensibilidade entre as raças do patógeno. Os resultados aqui apresentados contribuem para o avanço no estabelecimento de metodologias de edição gênica em Foc e no aprofundamento do estudo dos mecanismos de patogenicidade envolvidos na interação Musa-*Fusarium*.

**Palavras-chave:** Banana; Murcha de *Fusarium*; Resistência a antibiótico; Edição gênica; Transformação genética.