ESPÉCIES DE Fusarium ASSOCIADAS AO CAFEEIRO NA REGIÃO SUL DE MINAS GERAIS

Ludwig Heinrich PFENNING & Melissa Faria MARTINS, UFL, e-mail: ludwig@ufla.br

RESUMO: Tem sido relatado um grande número de patógenos fúngicos associados ao cafeeiro, causando sérias perdas econômicas nas principais regiões produtoras de café no Brasil. No solo e nas raízes destaca-se pelo maior número de espécies o gênero Fusarium. Nos últimos anos, tem sido observada em plantas de café uma síndrome levando rapidamente à murcha, sem se ter conhecimento dos agentes etiológicos que causam este distúrbio. O presente trabalho teve como objetivo isolar e identificar fungos associados à parte aérea e raízes de plantas apresentando a síndrome de murcha, dando ênfase ao gênero Fusarium. Material vegetal foi coletado em vários plantios da região Sul de Minas. O isolamento dos fungos foi conduzido em placas de Petri contendo o meio SNA (synthetic nutrient-poor agar), a partir de pequenos pedaços de tecido vegetal. Após a purificação dos isolados, características micromorfológicas e culturais foram observadas em meio de cultura. Os isolados foram preservados na Coleção Micológica de Lavras (CML) para fins de estudos futuros. Foram identificadas as espécies Fusarium oxysporum, F. solani, F. verticillioides, F. equiseti e F. stilboides, bem como um isolado de Fusarium sp. homotálico, formando a fase ascogênica, encontradas em raízes, folhas, galhos e troncos das plantas. Através de testes de patogenicidade, possíveis efeitos sobre a sanidade da planta e do produto estão sendo avaliados. Estudos estão em andamento visando esclarecer aspectos de taxonomia e patogenicidade das espécies e elaborar uma metodologia eficiente de isolamento e identificação correta das espécies.

PALAVRAS-CHAVE: Fusarium, Café, fungos fitopatogênicos, murcha, doença vascular.

ABSTRACT: A large number of phytopathogenic fungi are associated with coffee plants, in some cases causing considerable economic loss in production areas. One of the most important genera in soil and rhizophere is *Fusarium*. In the last decade, a sindrome, resulting in a rapid wilt, has been observed in coffee plants, nevertheless, any causal agent responsible for this disorder is unknown. The objective of the present study was to isolate and identify fungi associated with coffee plants with wilt symptoms, with emphasis to *Fusarium* species. Plant material was collected in different production areas in the south of Minas Gerais State. Fungi were isolated from small explants of plant tissue incubated in petri dishes with SNA (*synthetic nutrient-poor agar*). Isolates were purified and cultural and micromorphological characters were determined. Reference cultures are preserved in CML, the mycological culture collection of Universidade Federal de Lavras, for future studies. The following species could be identified: *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. verticillioides*, *F. equiseti* and *F. stilboides*. An homothallic species, forming an *Nectria* teleomorph, was observed as well. Pathogenicity and taxonomy of selected species and isolates are being analysed, efficient isolation and caracterization methods will be developed to permit rapid and correct detection and identification of *Fusarium* species.

INTRODUÇÃO

Na cultura do café, as doenças provocadas por fungos representam o maior empecilho à uma produção estável em altos níveis de produtividade e qualidade. Os patógenos da parte aérea das plantas e da rizosfera exercem um papel de destaque para a sanidade da cultura. Espécies do gênero *Fusarium* podem agir como patógenos do sistema radicular ou vascular, mas ocorrem também na forma de endofíticos, sem causar alterações visíveis na planta hospedeira. Um grande número de patógenos fúngicos associados ao cafeeiro, causando sérias perdas econômicas nas principais regiões produtoras de café no país, tem sido relatados (Saccá 1917, 1925, 1926; Carneiro & Pickel 1940). No solo e nas raízes destaca-se pelo maior número de espécies o gênero *Fusarium*. Não existe, entretanto, uma revisão recente, na maioria destas espécies devendo-se tratar de sinônomos. Em frutos, foram relatados *Fusarium coffeiocolum* P. Henn. (Azevedo, 1936; Saccá, 1917), causando "dieback", *Fusarium rimicolum* Sacc. e *Pionnotes navarrae* Averna (= *Fusarium*) naqueles atacados pela broca (Azevedo, 1936; Saccá, 1926). De maior importância ainda, são as espécies de *Fusarium* como patógenos de solo. Em raízes foram encontrados *Fusarium heterosporium* Averna (Saccá, 1926), *Fusarium pallens* Berk. & Cke. (syn. *F. glumarum* Sacc.) (Saccá, 1917) e *Fusarium* sp., causando "wilt" (Azevedo 1936; Abbot 1929). Uma revisão de doenças causadas por *Fusarium* spp. nos

trópicos, inclusive em café, foi elaborada por Waller & Brayford (1990). Trabalhos sobre *Fusarium* e outros fungos sistêmicos em cafeeiro no Brasil não foram encontrados. Outra especie de *Fusarium* infectando raízes do cafeeiro, *F. moniliforme* var. *subglutinans* (= *F. subglutinans*) é conhecida em Cuba (Martinez & Cachon 1992). Na Índia, importante produtor de café, foram relatados como patógenos em raízes do cafeeiro os basidiomycetes *Fomes noxius* (syn. *Phellinus noxius*), causando "*brown root*" e *Poria hypolateritia* causando a "*red root disease*", os Ascomycetes *Rosellinia arcuata* e *Rosellinia bunodes* ("*black root disease*") e *Fusarium oxysporum* f. sp. *coffeae* causando uma doença conhecida como "*Santavery root disease*" (Kannan 1986, 1995). Venkatasubbaiah & Safeeulla (1986) estudaram patógenos associados a rizosfera de plântulas do café e notaram uma prevalência de espécies de *Fusarium* na rizosfera.

Outra fusariose, denominada traqueomicose, doença vascular do cafeeiro provocada por *Fusarium xylarioides* Steyaert (Steyaert 1948), foi estudada na África por Blittersdorf & Kranz (1976). O trabalho, publicado em alemão, não é, portanto, muito divulgado e não existe estudo equivalente para as plantações no Brasil. Este fungo é caracterizado em detalhe e ilustrado em Gerlach & Nirenberg (1982) e considerado uma boa espécie ainda por outros autores (Booth & Waterston 1964; Booth 1971; Gerlach 1978). A fase ascogênica é conhecida como *Gibberella xylarioides* (Booth & Waterston 1964). Entretanto, na monografia de Nelson *et al.* (1983), esta espécie de *Fusarium* entrou na lista de espécies duvidosas. A identidade deste patógeno continua, portanto, não sendo esclarecida, embora seja um dos mais prováveis responsáveis por murchas do cafeeiro. O fungo ataca o sistema vascular da planta causando murcha após curto período de incubação e, posteriormente, a morte. O primeiro relato da doença é de *Coffea excelsa*, mas cultivares de outras espécies como *Coffea canephora* e *Coffea arabica* também mostraram-se suscetíveis (Gerlach & Nirenberg 1982).

Nos últimos anos, tem sido observada uma síndrome levando à murcha de cafeeiros sem se ter conhecimento dos agentes etiológicos que causam este distúrbio que leva à morte das plantas em várias regiões de plantio do café. Certos fungos sistêmicos colonizam o sistema vascular da planta levando rapidamente à obstrução dos vasos e, em conseqüência, à morte da planta. Entre os mais conhecidos estão espécies dos gêneros *Fusarium* e *Verticillium*. Existem indícios em estudos sobre café na África, de que pode-se tratar de uma espécie de *Fusarium* causando um tipo de traqueomicose (Blittersdorff & Kranz 1976) Existem outros exemplos de "morte súbita", como em melão ou soja que estão sendo investigados quanto à atuação de espécies de *Fusarium* e outros gêneros conhecidos como sistêmicos ou endofíticos. Embora tenham sido relatadas para o Brasil mais de 15 diferentes espécies de *Fusarium*, não existem trabalhos recentes. Resultados preliminares foram publicados por Pfenning & Silva (1999) e Pfenning & Martins (2000). O presente trabalho teve como objetivos isolar fungos associados à parte aérea e raízes de plantas apresentando sintomas de murcha, dando ênfase à espécies do gênero *Fusarium*, e caracterizar e identificar as espécies encontradas.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal foi coletado de plantas de café apresentando murcha em vários plantios da região Sul de Minas Gerais. O isolamento dos fungos foi realizado em placas de Petri contendo o meio SNA (*synthetic nutrient-poor agar*), a partir de pequenos pedaços de tecido vegetal. Após a purificação das linhagens, a identificação seguiu protocolo adaptado de Nelson *et al.* (1983) e Nirenberg (1990), incluindo repique dos isolados em placas com meio SNA e OA (*oatmeal agar*) e incubação a 20 °C em fotoperíodo de 12/12 sob luz negra. Em meio OA, observou-se taxa de crescimento, pigmentação da colônia e formação do micélio aéreo. Em SNA, foram observadas as características micromorfológicas, como a presença ou não e cor de esporodóquios; presença ou não, freqüência, tamanho, formato e origem de microconídios; forma, tamanho e origem dos macroconídios; tipo de fiálides onde são formados os conídios, presença ou não e arranjo de clamidósporos. Após caracterização dos isolados através de suas características diagnósticas, a identificação da espécie foi conduzida mediante confirmação das características em chaves de identificação e descrições na literatura. Os isolados foram preservados em tubos contendo meio SNA ou solo estéril na Coleção Micológica de Lavras (CML) para fins de estudos futuros.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As espécies *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. verticillioides*, *F. equiseti* e *F. stilboides* foram encontradas em raízes, folhas, galhos e troncos de plantas de café com sintomas de murcha. Um isolado de *Fusarium* sp. homotálico, formando a fase ascogênica (*Nectria* sp., Hypocreales), também foi obtido, o qual está sendo caracterizado e identificado.

Fusarium equiseti (Corda) Sacc.

Teleomorfo: Gibberella intricans Wollenw.

Características diagnósticas: Cultura de crescimento rápido; microconídios geralmente ausentes; macroconídios curvados, de parede fina e nitidamente septados; célula apical alongada e curvada de forma acentuada; célula pé acentuada; macroconídios formados em monofiálies; clamidósporos de parede grossa e ornamentada formados no micélio aéreo e no micélio imerso em abundância. A espécie foi isolada do sistema radicular de uma planta com sintomas de murcha.

Fusarium stilboides Wollenw.

Teleomorfo: Gibberella stilboides Gordon ex C. Booth

Características diagnósticas: Cultura de crescimento moderado, alcançando 40 mm em 7 dias em OA, de pigmentação vermelho carmesina a amarelo-marrom; microconídios e clamidósporos ausentes; conidióforos no micélio aéreo proliferando, formando feixes característicos; macroconídios formados no micélio aéreo com 1-3 septos, relativamente grossos; macroconídios formados em esporodóquios de cor laranja ou tons rosados retos na parte central, com 5 (-7) septos, com a célula apical pontuda e célula pé acentuada. A espécie foi isolada várias vezes de tecido vascular de galhos e troncos de plantas com sintomas de murcha. Fusarium stilboides tem associação estrita com Coffea spp. A espécie é considerada sinônimo de Fusarium lateritium por Nelson et al. (1983). Por outro lado, Booth (1971) considera Fusarium lateritium na sua variedade longum sinônimo de Fusarium stilboides. Estes conceitos não são sustentáveis, pois Fusarium lateritium var. longum, embora registrado em citrus e café na África do Sul, apresenta características distintas em cultura. O isolamento de mais linhagens e estudos comparativos são necessários para esclarecer esta situação. A questão sobre qual efeito F. stilboides pode causar sobre a planta e se este é ou não toxigênico, pode ser respondida somente após maiores estudos.

Fusarium verticillioides (Sacc.) Nirenberg

(sin. Fusarium moniliforme Sheld.)

Teleomorfo: Gibberella moniliformis Winel.

Características diagnósticas: Colônia de crescimento rápido, micélio aéreo branco geralmente formado em abundância; microconídios formados no micélio aéreo em cadeias e falsas cabeças; formato dos microconídios característico da Secção Liseola; macroconídios em esporodóquios formados por monofiálides; clamidósporos ausentes. Esta espécie foi isolada de tecido vascular de galho de uma planta com sintoma de murcha.

Fusarium oxysporum Schlecht.

Teleomorfo: desconhecido

Características diagnósticas: Colônia de crecimento rápido, pigmentação variável, de rosa, roxa a lilás; micélio aéreo branco geralmente abundante; micoconídios formados em fiálides curtas no micélio aéreo; macroconídios formados em esporodóquios, com geralmente 3 septos; clamidósporos formados em abundância, solitários ou em pares. A espécie foi isolada várias vezes do sistema radicular de plantas com sintomas de murcha.

Fusarium solani (Mart.) Sacc.

Teleomorfo: Nectria haematococca Berk. & Br. var. brevicona (Wollenw.) Gerlach

Características diagnósticas: Colônia de crecimento rápido, pigmentação variável, frequentemente creme, mas ocorrem tons de rosa e lilaz; micélio aéreo branco; microconídios formados em fiálides longas, conidióforos não ramificadas, no micélio aéreo; macroconídios formados em esporodóquios, com geralmente 3 septos; clamidósporos formados em abundância, solitários ou em pares. A espécie foi isolada várias vezes do sistema radicular de plantas com sintoma de murcha.

Estudos mais aprofundados sobre espécies de *Fusarium* associadas ao cafeeiro estão em andamento, visando esclarecer aspectos de nomenclatura, inclusive a revisão de nomes antigos, a elaboração de uma metodologia eficiente para o isolamento e a identificação correta das espécies e de possíveis efeitos sobre a sanidade da planta e do produto. A identificação correta das espécies fúngicas é condição para conclusões subsequentes quanto ao provável impacto sobre a planta no que diz respeito à biologia, patogenicidade e produção de metabólitos secundários pelos respectivos fungos. Para a visualização das características diagnósticas e identificação confiável das espécies faz-se necessário adotar um procedimento rigorosamente padronizado.

CONCLUSÕES

Fungos do gênero *Fusarium* estão entre os mais importantes patógenos de plantas perenes, inclusive o café. Durante o século passado, foram descritas e registradas no Brasil mais de 20 espécies diferentes, causando os mais variados distúrbios em plantas de café. Enquanto várias fusarioses foram estudadas em outras regiões produtoras de café do mundo, nenhum estudo conclusivo é encontrado para o nosso território. Tendo em vista tanto a importância do patógeno como a da cultura do café, estudos avançados sobre este patossistema são urgentemente indicados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOT, E.V. 1929. Diseases of economic plants in Peru. Phytopathology 19: 653.
- AZEVEDO, N. 1936. Relação bibliográfica de fungos e doenças do cafeeiro. *Rodriguesia* (Rio de Janeiro), num esp. 219 pp.
- BLITTERSDORFF, R. V. & KRANZ, J. 1976. Vergleichende Untersuchungen an *Fusarium xylarioides* Steyaert (*Gibberella xylarioides* Heim & Saccas), dem Erreger der Tracheomykose des Kaffees. *Z. Pflanzenkrankheiten Pflanzenschutz* 83: 529-544.
- BOOTH, C. 1971. The genus Fusarium. CMI Kew, 237 pp.
- BOOTH, C. & WATERSTON, J.M. 1964. *Gibberella xylarioides*. CMI Descriptions of Plant pathogenic fungi and Bacteria, no. 24.
- CARNEIRO, J.G. & PICKEL, D.B. 1940. Catálogo das bactérias e dos fungos do cafeeiro. Secretaria da Agricultura, Indústria e Comércio do Estado de São Paulo. São Paulo, 184 pp.
- GERLACH, W. 1978. Critical remarks on the present situation in *Fusarium* taxonomy. In: Subramanian, C.V., Proc. Intern. Symp. Taxonomy Fungi. University Madras 1973. Pp. 115-123.
- GERLACH, W. & NIRENBERG, H. 1982. The genus *Fusarium*: a pictorial atlas. Biol. Bundesanst. für Land-u Forstwirtschaft. Berlin-Dahlem. Parey, Berlin, 406 pp.
- KANNAN, N. 1986. Root diseases of coffee. *Indian-Coffee* (India) 50(12): 21-24.
- KANNAN, N. 1995. Technical report on diseases affecting coffee in India a review. *Indian-Coffee* (India) 50(12): 11-17.
- MARTINEZ, B. & CACHON, A.K. 1992. Fusarium moniliforme var. subglutinans Wollenw. & Reink., pathogen of coffee plants. Revista-de-Proteccion-Vegetal (Cuba) 1: 81-82; 5 ref.
- NELSON. P.E., TOUSSOUN, T.A. & MARASAS, W.F.O. 1983. Fusarium species: an illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University, University Park and London, 193 pp.
- Nirenberg, H.I. 1990. Recent advances in the taxonomy of *Fusarium*. *Studies in Mycology* (Baarn) 32: 91-101.
- PFENNING, L. & SILVA, C.F. 1999. Isolamento, caracterização e identificação de espécies de *Fusarium* associados ao cafeeiro na região Sul de Minas Gerais. Anais 25. Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, Franca SP, pp. 56-58.
- PFENNING, L. & MARTINS, M.F. 2000. Espécies de *Fusarium* associadas ao cafeeiro na região sul de Minas Gerais. Anais do 23. Congresso Paulista de Fitopatologia, Campinas SP, p. 233. (Resumo)
- SACCÁ, R.A. 1917. Moléstias criptogámicas do cafeeiro, 37. São Paulo.
- SACCÁ, R.A. 1925. Segunda contribuição para o estudo das moléstias criptogámicas do cafeeiro, 8. São Paulo.
- SACCÁ, R.A. 1926. Algumas moléstias criptogámicas novas do sistema radicular do cafeeiro. Comm. Estud. Debell. Praga Cafeeira Publ. (SP) 17: 9.
- STEYAERT, R.L. 1948. Contribution à l'étude des parasites des végétaux du Congo Belge. Bull. Soc. Roy. Bot. Belg. 80, Ser. 2, 30: 11-49.
- VENKATASUBBAIAH, P. & SAFEEULLA, K.M. 1986. Rhizosphere and rhizoplane microflora of coffee seedlings as influenced by collar rot and by seed pre-treatment. *Annals Tropical Research* (Philippines) 8(3): 141-149.
- WALLER, J.M. & BRAYFORD, D. 1990. TPM special review no. 3: *Fusarium* diseases in the tropics v. 36(3) p. 181-194.

AVISO

ESTA PUBLICAÇÃO PODE SER ADQUIRIDA NOS SEGUINTES ENDEREÇOS:

FUNDAÇÃO ARTHUR BERNARDES

Edifico Sede, s/nº. - Campus Universitário da UFV

Viçosa - MG

Cep: 36571-000

Tels: (31) 3891-3204 / 3899-2485

Fax: (31) 3891-3911

EMBRAPA CAFÉ

Parque Estação Biológica - PqEB - Av. W3 Norte (Final)

Edifício Sede da Embrapa - sala 321

Brasília - DF

Cep: 70770-901

Tel: (61) 448-4378

Fax: (61) 448-4425