

Estudo da Fusariose do Algodoeiro

Míriam Goldfarb¹

1- Bióloga, Universidade Estadual da Paraíba, UEPB, Campina Grande, PB. Email: miriam.gold@hotmail.com

RESUMO

A Fusariose é uma doença de plantas que tem como agente causal o fungo do gênero *Fusarium*, no algodoeiro a principal característica dessa doença é a murcha das folhas e o enegrecimento dos vasos xilemáticos, o que provoca obstrução das raízes e um desequilíbrio osmótico da planta, o que resulta em murcha e amarelecimento das folhas visivelmente na parte aérea da planta. A espécie *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* é o agente etiológico da Fusariose do algodoeiro. Nesse sentido, o presente artigo teve como objetivos descrever técnicas de inocular os esporos de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* em algodoeiros sob condições controladas, a fim de se obter o desenvolvimento da Fusariose. No primeiro experimento foram seis tratamentos utilizados: (i) mergulho da raiz em béquer contendo a suspensão de esporos, (ii) perfurações na região do colo das plantas com alfinetes, (iii) fixação de palitos na região do colo de cada planta, (iv) perfuração do solo com uma faca para assim danificar as raízes das plantas, (v) adição da suspensão de esporos no colo das plantas sem realizar ferimentos, usando um pipetador automático e (vi) a planta-testemunha. Nesse primeiro experimento foram utilizados 36 vasos, sendo uma planta por vaso (6 tratamentos por 6 repetições). No segundo experimento, foram realizados quatro tratamentos consistindo em: (i) ferimentos nas raízes secundárias, (ii) deposição da suspensão de esporos no colo da planta sem provocar ferimentos, (iii) mergulho da raiz na suspensão sem a ocorrência de ferimentos nas mesmas e (iv) a planta-testemunha. Sendo 4 tratamentos com 4 repetições cada. Os resultados do primeiro experimento demonstraram que os tratamentos que consistiam de ferimentos no colo e nas raízes permitiram a entrada do patógeno no sistema vascular das plantas, provocando os sintomas característicos de murcha das folhas e enegrecimento interno das raízes. No segundo experimento, os tratamentos que consistiram em mergulho da raiz na suspensão sem fazer ferimentos e aquelas com ferimentos nas raízes secundárias, resultaram no surgimento dos principais sintomas da doença.

Palavras chaves: algodoeiros, fungo, doença

ABSTRACT

The Fusariose is a plant disease that has a causal agent the fungus of the type *Fusarium*, in cotton the main characteristic of this disease is the wilt of the leaves and the blackening of the xylem vessels, which causes root obstruction and osmotic imbalance of the plant. These are results in wilt and yellowing of the leaf visibly on the aerial region of the plant. The species *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* is the etiologic agent of cotton *Fusarium*. In this sense, the present article has as objectives to describe techniques to inoculate the spores of *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* in cotton plants under controlled conditions, in order to obtain the development of *Fusarium*. In the first experiment were used six treatments: (i) immersion of the root in beaker containing the suspension of spores, (ii) perforations in the area of the neck of the plant with pins, (iii) set of toothpicks in the area of neck of each plant, (iv) perforation of the soil with a knife to injure the roots of the plants, (v) addition of the suspension of spores in the neck of the plants without causing wounds, just using an automatic pipette and the (vi) plants-witness. In the first experiment 36 vases were used, being a plant by vase (6 treatment x 6 repetitions). In the second experiment four treatments were performed consisting of: (i) wounds in the secondary roots, (ii) deposition of the suspension of spores in neck of the plant without to injure, (iii) immersion of the root in a suspension of spores without wounds and the (iv) plants-witness. In the total of 4 treatments x 4 repetitions were used. The results of first experiment demonstrated that the treatments that cause wounds in neck and roots of the plants provide the entrance of the pathogen in the vascular system of the plants, provoking the characteristics symptoms of wilt of the leaves and dark coloration inside of roots. In the second

experiment the treatments that consisted in immersion of the root in the suspension with and without wounds in the secondary roots, resulted in the appearance of the main symptoms of this disease.

Key words: cottons, fungus, disease

INTRODUÇÃO

O primeiro relato da murcha de *Fusarium* em algodoeiro no Brasil foi em 1935, na região Nordeste no município de Alagoinha-PB (GRILLO, 1936) e foi, posteriormente, propagada para as demais regiões produtoras, sendo responsável por uma fase de decadência da cultura algodoeira paulista, sobretudo na segunda metade da década de 50. Este fato, determinou a necessidade de obtenção de cultivares melhoradas com resistência à doença, visando substituir aquelas suscetíveis até então plantadas (CAVALERI, 1964) uma vez que este é o único método viável de controle da patologia.

A doença é causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f.sp *vasinfectum*, habitante do solo, que sobrevive por vários anos depois de introduzido, devido à sua capacidade saprofítica em matéria orgânica, estruturas de sobrevivências denominadas de clamidósporos e patogenicidade em outras plantas hospedeiras (ARAÚJO & SUASSUNA, 2003). O crescimento deste micro-organismo é favorecido em solos com umidade acima de 40% e pH entre 5,6 e 7,2, a temperatura ótima para a germinação dos esporos no solo é 25°C, enquanto a esporulação máxima é aos 30°C (EL ABYAD & SALEH, 1971). Segundo HILLOCKS (1992), o patógeno cresce melhor em meio de cultura constituído por Batata, Dextrose e Ágar (BDA) a 2%, em pH 6,5.

O processo de infecção pelo gênero *Fusarium* tem sido muito estudado, conforme KHADR (1992), a penetração dos esporos deste fungo pelas raízes ocorre na região da Zona de Crescimento, uma vez que nessa fase são liberados exsudatos que estimulam os patógenos naturalmente habitantes do solo a migrarem até alcançar as raízes (KERR, 1980). As murchas foliares são causadas pela obstrução que o micélio do fungo provoca no xilema resultando assim na produção de metabólitos no tecido vascular. Em decorrência desse acúmulo de metabólitos, ocorre o escurecimento vascular, principal indício da infecção por fusarium. O processo bioquímico envolvido durante a infecção é a oxidação de fenóis e possivelmente sua desidrogenação por peroxidases que são responsáveis pela descoloração interna nas raízes (PEGG, 1981). A produção de toxinas como ácido fusárico pode interferir no balanço hídrico da planta (LAKSMINARAYAN e SUBRAMANIAN, 1995). A murcha foliar da parte aérea é o resultado de uma combinação do efeito dos metabólitos produzidos pelo fungo e metabólitos produzidos pela planta em resposta à infecção (DIMOND, 1970).

Os clamidósporos são formas de estruturas de sobrevivência, caracterizando a fase de dormência nessa espécie. Os clamidósporos é constituída por uma massa compacta do micélio a forma de dormência favorecendo a permanência desses organismos por longos períodos no ambiente. Estas estruturas podem ser disseminadas na área através do movimento do solo provocado pelo vento, água ou implementos agrícolas (BEDENDO, 1995). O estado de dormência é quebrado quando ocorre a germinação sobre as raízes do algodoeiro e o tubo germinativo penetra diretamente ou através de ferimentos, alcançando o interior da planta (BEDENDO, 1995). Enquanto a disseminação do patógeno a longas distâncias se dá por meio de sementes contaminadas, o movimento de partículas de solo contribui para sua propagação

no campo em curtas distâncias, aumentando de maneira gradual as “reboleiras” características com plantas doentes (ARAÚJO e SUASSUNA, 2003).

O manejo da doença é realizado principalmente pelo princípio da exclusão, evitando-se sua introdução em áreas isentas do patógeno. Para isso, o tratamento de sementes é fundamental. É recomendado também a rotação de culturas e o plantio de cultivares mais resistentes (ARAÚJO e SUASSUNA, 2003). Assim, este trabalho teve como objetivos descrever técnicas de inoculação para testar a patogenicidade de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* em algodoeiros.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em casa de Vegetação e no Laboratório de Fitopatologia da EMBRAPA Algodão, localizada na cidade e Campina Grande, Paraíba, Brasil.

Primeiro Experimento

Obtenção de inóculo

Colônias de esporos de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* foram cultivadas em meio de cultura Batata (Figura 1), Dextrose e Ágar (BDA). Foram semeados discos de micélio de colônias de três isolados do patógeno (oriundos da Paraíba, Bahia e São Paulo), as placas foram mantidas em BOD com temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas de luz. Aproximadamente dez dias após a multiplicação das hifas do fungo, foi efetuada a lavagem do micélio com água destilada esterilizada e a suspensão obtida foi filtrada e ajustada para a concentração de 5×10^6 conídios por mL com o auxílio do hemacitômetro.

Cultivo dos algodoeiros

Esta parte do experimento foi realizada em casa de vegetação pertencente ao setor de fitopatologia da Embrapa algodão. Foram preparados vasos com capacidade para três litros, contendo solo esterilizado (areia, argila e silte, nas seguintes concentrações, 380 mL, 410 mL e 30 mL, respectivamente), onde foram cultivados os algodoeiros. Esse experimento foi realizado em seis tratamentos com seis repetições, totalizando 36 plantas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. O genótipo testado foi a CNPA ITA 90 II, em testes preliminares esta variedade apresentou-se suscetível à Fusariose.

Métodos de inoculação

Aos 37 dias de germinação, procederam-se as inoculações. No primeiro tratamento, o método consistiu em mergulhar a raiz em um becker contendo a suspensão de esporos (ajustada para 5×10^6 esporos /mL, solução com 5 mL), a raiz permaneceu submersa por aproximadamente três minutos, em seguida foi replantada no vaso. A segunda técnica (Tratamento 2) foi perfurar o colo das plantas com alfinetes, logo em seguida os depósitos de

esporos foram colocados nas perfurações deixadas por esses instrumentos. No terceiro método (Tratamento 3) foram utilizados palitos, cada palito foi colocado na região do colo de cada planta não sendo retirado, sobre o local onde o palito foi fixado foi depositada a concentração de esporos. No quarto tratamento foram realizados ferimentos nas raízes, com auxílio de uma faca; este instrumento perfurou o solo com o propósito de danificar a raiz, posteriormente foi colocado o inóculo nas perfurações deixadas no solo. O quinto método (Tratamento 5) e último método foi a adição da suspensão no colo das plantas sem realizar ferimentos. O sexto Tratamento foi a planta testemunha (controle). As concentrações de esporos para todos os tratamentos foram de 5×10^6 esporos /mL.

Segundo experimento

Obtenção do inóculo

Os mesmos procedimentos do primeiro experimento, com a obtenção das mesmas concentrações de esporos.

Cultivo do algodoeiro

Primeiramente, foram semeadas as sementes de algodão em sacos de polietileno de baixa densidade, com dimensões de 50 mm X 150 mm. Aos 16 dias após a germinação, as plantas foram transferidas para vasos maiores, com capacidade para 10 litros. O solo foi esterilizado, as composições foram de areia, argila e silte, nas concentrações de 460 mL, 480 mL e 15 mL, respectivamente. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e 4 repetições, totalizando 16 vasos, uma planta por vaso, incluindo a planta testemunha (controle).

Métodos de inoculação

Aos 37 dias de germinação, procederam-se as inoculações: o primeiro método (Tratamento 1) consistiu em colocar o depósito da suspensão de esporos na região do colo da planta, sem fazer ferimentos. A segunda técnica (Tratamento 2) foi obtida por mergulhar a raiz na suspensão, a raiz sadia, sem ferimentos. Na terceira metodologia (Tratamento 3) foram realizados pequenos cortes feitos com tesouras nas raízes secundárias, logo em seguida as raízes foram mergulhadas na suspensão de esporos e deixadas por aproximadamente três minutos. O quarto e último tratamento foi a testemunha (controle).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os dados da Tabela 1 (primeiro e segundo experimentos), no primeiro experimento, o Tratamento (3) e o Tratamento (5) apresentaram maior incidência dos sintomas da Fusariose. Foram realizadas análises laboratoriais que consistiram no processo de isolamento indireto do fungo, conforme metodologia descrita por Neergaard (1979), por esse método foi comprovado ser o fungo *Fusarium*, o agente microbiológico causador da doença. Apesar das plantas do segundo experimento ter sido primeiramente cultivadas em sacos de

polietileno de baixa densidade e aos 37 dias, transferidas para vasos e em seguida inoculadas, esses procedimentos não alteraram a resistência das mudas, porque de todos os tratamentos, apenas o Tratamento (2) e o Tratamento (3) apresentaram severidade de sintomas alcançando a fase de necrose das plantas conforme se verifica nas Figuras 2 e 3. Nos demais tratamentos não foram observados os sintomas externos (Figura 4) característicos da doença, tais como a murcha foliar, queimadura das bordas foliares e surgimento de brotações.

No primeiro ensaio todas as plantas apresentaram os sintomas externos, algumas com sintomas mais severos, outras com sintomas leves (Figura 5).

Uma hipótese a ser considerada é a respeito das características do solo, sendo o solo do segundo ensaio mais argiloso, a literatura em torno da sobrevivência desse fungo, cita que o mesmo estaria mais apto a sobreviver em solos arenosos. Outra consideração que reforça esta hipótese é que no primeiro experimento, o solo era mais arenoso, resultando numa maior incidência dos sintomas característicos da Murcha de Fusarium.

Tabela 1. Resultados a porcentagem de incidência dos sintomas da *Fusariose*

Primeiro experimento		Segundo experimento	
Tratamentos	*Média (%)	Tratamentos	Média (%)
T ₁	0	T ₁	25
T ₂	33	*T ₂	75
*T ₃	50	*T ₃	50
T ₄	33	T ₄	0
*T ₅	67		
T ₆	0		

Legendas. **Primeiro experimento:** (T₁) Adição da suspensão de esporos no colo da planta sem fazer ferimentos; (T₂) Mergulho da raiz na suspensão; (T₃) Ferimentos com agulhas; (T₄):Ferimento com palitos; (T₅) Ferimento na raiz;(T₆) Testemunha (Controle); **Segundo experimento:** (T₁) Inóculo colocado no colo da planta (sem ferimento); (T₂) Mergulho da raiz na suspensão; (T₃) Mergulho da raiz com ferimentos; (T₄)Testemunha (Controle).(*)Tratamentos com maior incidência dos sintomas.



Figura 1. Caracterização de *F. oxysporum* fsp. *vasinfectum* em meio de cultura BDA.



Figura 2. Queima total das folhas.



Figura 3. Queima e murcha das folhas.



Figura 4. Plantas sem sintomas.



Figura 5. Sintomas externos da murcha foliar.

CONCLUSÕES

- 1- No primeiro experimento, os Tratamentos (3) e Tratamento (5) apresentaram severidade nos sintomas internos e externos da Fusariose. Comprovando que os procedimentos utilizados propiciaram uma facilidade de penetração do patógeno no tecido vascular do algodoeiro.
- 2- No segundo experimento, os Tratamentos (2) e Tratamento (3), foram os que apresentaram os sintomas mais evidentes da Murcha de Fusarium.
- 3- Os resultados demonstraram a eficiência de se utilizar esses métodos de inoculação a fim de proporcionar um estudo mais detalhado acerca dessa doença em plantas de algodão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, A.E; SUASSUNA, N.D. **Guia de identificação e controle das principais doenças do algodoeiro no estado de Goiás**. Campina Grande: EMBRAPA, 2003, 24p.
- BEDENDO, J.P. Doenças vasculares. In: BERGAMIN, F.A; KIMATI, H; AMORIN, L. **Manual de Fitopatologia**. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres, 1995. p.839-843.
- BOOTH, C., **The genus *Fusarium***. New York: Wallingford, UK: CAB Internacional,1977, 60p.
- CAVALERI, P. A. Variedades Resistentes à Murcha. São Paulo: **Secretaria do Estado de São Paulo**, DATE/SIR, 1964.Série D/n. 7, 8p. (mimeografado).
- DIMOND,A. E. Biophysics and Biochemistry of the vascular wilt syndrome. **Annual Review of Phytopatology** , 1970. p.301.
- EL ABYAD, M.S.; SALEH, Y.E. Studies with *Fusarium oxysporum* F.sp. vasinfectum, the cause of cotton wilt in Egypt: germination , sporulation and growth. **Transactions of the British Mycological Society**. v.57,p.427-37, 1971.
- GRILLO, H.S.V. Relatório sobre a murcha do algodoeiro causada por *Fusarium vasinfectum* ATK. no estado da Paraíba. **Rodriguesia**.1936,7:319-327 p.
- HILLOCKS, R.J., **Cotton Diseases** . [S.L]: CAB INTERNACIONAL, 1992. 415p.
- KHADR, A.S. Varietal susceptibility and significance of the reniform nematode *Rotylenchulus reniformes*, in Fusarium wilt of cotton. **Plant Disease**, Reporter, v.56, n.12, p.1040-1042, 1992.
- KERR, A. Biological control of crown gall through bacteriocin production. **Plant Disease**, v.64, n.1, p.24-30, 1980.
- LAKSHMINARAYAN, K; SUBRAMANIAN, D. Is *Fusarium* acid a vivotoxin. **Nature** 176,697-8, 1995
- NEERGAARD, P. **Seed pathology**. London: The Macmillan, 1979.v.1, 839p.
- PEGG, G.F. Biochemistry and physiology of pathogenesis. In: Mace M.E; BELL,A. A.; BECKMAN,C.H. **Fungal Wilt Diseases of Plants**. Academic Press, New York, 1981, p.193-253.

