



**ESPÉCIES DE *Fusarium* ASSOCIADAS AO  
CAFEEIRO (*Coffea arabica* L.)**

**ANDERSON RESENDE ALMEIDA**

**2003**

55518

UF0047450

DESCARTADO

*maifein*  
ASSINATURA

Data 23/08/17

BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA  
UFLA

ANDERSON RESENDE ALMEIDA

**ESPÉCIES DE *Fusarium* ASSOCIADAS AO CAFEIEIRO**  
**(*Coffea arabica* L.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Fitopatologia, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. Ludwig Heinrich Pfenning

LAVRAS

MINAS GERAIS – BRASIL

2003

80.88  
2012

Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA

Almeida, Anderson Resende

Espécies de *Fusarium* associados ao cafeeiro (*Coffea arabica* L.) / Anderson Resende Almeida. -- Lavras : UFLA, 2003.

87 p. : il.

Orientador: Ludwig Heinrich Pfenning.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Caracterização. 2. *Fusarium*. 3. Patogenicidade. 4. *Haematonectria ipomoeae*. 5. *Coffea arabica*. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.7394

**ANDERSON RESENDE ALMEIDA**

**ESPÉCIES DE *Fusarium* ASSOCIADAS AO CAFEIEIRO  
(*Coffea arabica* L.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Fitopatologia, para a obtenção do título de “Mestre”.

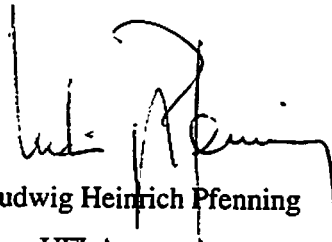
APROVADA em 28 de fevereiro de 2003

Prof. Dr. Mário Lúcio Vilela de Resende

UFLA

Prof. Dr. Armando Takatsu

UFU



Prof. Dr.: Ludwig Heinrich Pfenning

UFLA  
(Orientador)

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL

## **DEDICATÓRIA**

A minha esposa, Juliana Franco Barbosa, fiel companheira de todas as horas e por sempre ajudar a tornar possível todos os caminhos que sigo.

Ao meu pai, Joaquim Sávio de Almeida,  
minha mãe, Zuleica Maria Resende e Almeida,  
aos meus avôs, *in memoriam*,  
Alfredo Campos de Almeida  
José Tibúrcio de Resende

**DEDICO.**

Aos meus irmãos, Alessandra, Alfredo e Alcione,  
meus segundos pais, Tio e tia Zina,  
cunhados, Narciso e Renata,  
sogros, Renato e Laís  
e meus familiares,

**OFEREÇO.**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas bênçãos maravilhosas em minha vida, minha luz e minha salvação.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Fitopatologia, pela minha formação.

Aos meus familiares, que sempre acreditaram em mim, especialmente os padrinhos José do Carmo e Rosane.

Ao Professor Dr. Ludwig Heinrich Pfenning, pela orientação, paciência e confiança e a sua esposa Dr<sup>a</sup>. Magnólia Campos pelas valiosas sugestões.

Ao Professor Dr. Armando Takatsu, pelas sugestões e por participar da banca de dissertação.

Aos Professores do Departamento de Fitopatologia, pelos ensinamentos e em especial ao Dr. Mário Lúcio Vilela de Resende, por participar da banca de dissertação.

Aos amigos e padrinhos, Engenheiros Agrônomos Cesar Elias Botelho e José Geraldo Donizetti Santos.

Aos colegas de mestrado Arnaldi, Fernando, Gilvane, Íris e Maurício, pelo companheirismo e a todos os funcionários e laboratorista do DFP.

Aos colegas de labuta do Laboratório de Micologia Zuleide, Cristiano, Flávia e Edson, em especial a Mirian e Ricardo, pelas sugestões e apoio constantes.

Ao ex-bolsista da PBIICT/FAPEMIG José Eduardo Menezes Mendonça e ao bolsista Fabrício Packer Gonçalves, que tanto colaboraram na condução dos trabalhos.

Aos produtores que “abriram as porteiras” para as coletas, em especial ao empresário Guilherme Luiz Naves Alves.

Ao Agrônomo Ednaldo Abrahão (EMATER – Lavras), pelo apoio nas coletas e apresentação aos produtores.

Ao Consórcio Brasileiro de Pesquisas e Desenvolvimento do café (CBP&D) pelo financiamento do projeto.

Ao CEPE Café e ao Núcleo de Estudos em Cafeicultura (NECAF) pelo apoio na condução dos trabalho.

A CAPES pela concessão da bolsa.

A todos os brasileiros que lutam para pagarem seus impostos, permitindo a formação profissional de milhares de alunos em universidades públicas.

**MUITO OBRIGADO!**

## SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
CAPÍTULO 1 Fusariose em <i>Coffea</i> sp no Brasil e no Mundo.....	1
1 Introdução geral .....	2
2 Referencial teórico .....	4
2.1 Fusariose em café em outras partes do mundo.....	4
2.2 Fusariose em café no Brasil .....	7
2.3 Epidemiologia .....	9
3 Referências bibliográficas .....	11
CAPÍTULO 2 Isolamento, caracterização e identificação de espécies de <i>Fusarium</i> associadas a <i>Coffea arabica</i> .....	17
1 Resumo.....	18
2 Abstract .....	19
3 Introdução .....	20
4 Material e métodos .....	22
4.1 Localidades de amostragem .....	22
4.2 Material coletado.....	23
4.3 Isolamento de fungos do gênero <i>Fusarium</i> .....	23
4.4 Caracterização e identificação de <i>Fusarium</i> sp.....	24
5 Resultados .....	26
5.1 Sintomatologia observada no campo.....	26
5.2 Caracterização e identificação de <i>Fusarium</i> sp.....	30
6 Discussão .....	43
7 Referências bibliográficas .....	48
CAPÍTULO 3 Testes de patogenicidade de <i>Fusarium</i> sp. em mudas de cafeeiro ( <i>Coffea arabica</i> L.).....	52
1 Resumo.....	53
2 Abstract .....	54
3 Introdução .....	55
4 Testes de patogenicidade.....	57
4.1 Produção de mudas .....	57
4.2 Produção de inóculo.....	57
4.3 Experimento 1 Inoculação de mudas de cafeeiro cultivar Acaia cerrado, estádio de “orelha de onça”, com os isolados CML 213, CML 215, CML219 e CML 222 .....	58
4.3.1 Delineamento experimental.....	58
4.3.2 Métodos de inoculação.....	58

4.4 Experimento 2 Inoculação de mudas de cafeeiro cv. Acaiá Cerrado, estádio de “orelha de onça”, com os isolados CML 216, CML 217 e CML218, por imersão das raízes em suspensão de conídios .....	59
4.4.1 Delineamento experimental.....	59
4.4.2 Método de inoculação .....	59
4.5. Experimento 3 Inoculação de mudas de cafeeiro cv. Catuaí, com quatro pares de folhas, com os isolados CML 213, CML 220 e CML221, por meio de ferimento no caule com auxílio de uma lixa. ....	60
4.5.1 Delineamento experimental.....	60
4.5.2 Método de inoculação .....	60
5 Resultados .....	61
6 Referências bibliográficas.....	64
<b>CAPÍTULO 4 <i>Haematonectria ipomoeae</i> (HALST.) Samuels &amp; Nirenberg, anamorfo <i>Fusarium striatum</i> Sherb.: patógeno de plantas cultivadas ?.....</b>	<b>65</b>
1 Resumo.....	66
2 Abstract .....	67
3 Introdução .....	68
4 Material e métodos.....	69
4.1 Isolamento de <i>Haematonectria ipomoeae</i> .....	69
4.2 Caracterização da espécie.....	70
4.3 Teste de patogenicidade em mudas de cafeeiro ( <i>Coffea arabica</i> L.), mudas de maracujá ( <i>Passiflora edulis</i> Sims) e em tubérculos de batata ( <i>Solanum tuberosum</i> L.).....	71
4.3.1 Obtenção das mudas.....	71
4.3.2 Produção de inóculo.....	71
4.3.3 Inoculação das mudas .....	72
5 Resultados .....	73
5.1 Isolamento, caracterização e identificação.....	73
5.2 Teste de patogenicidade .....	76
6. Discussão.....	78
7 Conclusões .....	84
8 Referências bibliográficas .....	85
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>86</b>



## RESUMO

ALMEIDA, Anderson Resende. *Espécies de Fusarium associadas ao cafeeiro (Coffea arabica L.)*. 2003. 87 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Lavras. Lavras.\*

Em lavouras de cafeeiro no Brasil tem sido observada uma síndrome de murcha que leva à morte das plantas em poucas semanas. Nestas plantas, espécies de *Fusarium* podem freqüentemente ser encontradas. No campo, plantas infectadas amarelecem, murcham e morrem em um curto período de tempo. Em viveiro ocorre o apodrecimento do hipocótilo das mudas no estágio de “palito de fósforo”. Em vários países da África, a murcha vascular ou “traqueomicose” causada por *Gibberella xylarioides* (anamorfo *Fusarium xylarioides*) conta entre as mais importantes doenças da lavoura. Estudos de caracterização das espécies associadas a essa cultura e testes de patogenicidade são escassos. Portanto, o presente trabalho teve como objetivos: a) isolar, caracterizar e identificar espécies de *Fusarium* associadas a plantas de cafeeiro com sintomas de murcha e b) testar a patogenicidade de alguns isolados selecionados. Espécies de *Fusarium* foram recuperadas a partir de caules, raízes e frutos coletados de cafeeiros com sintomas de murcha. O material vegetal foi coletado nos municípios de Lavras, Guapé, Machado, Muzambinho e Bambuí, no Sul de Minas Gerais e Capelinha, Norte de Minas. Sementes comerciais e hipocótilos de plântulas com sintomas de podridão colhidos em viveiro, também foram utilizados. Sete espécies foram caracterizadas e identificadas: *Fusarium dimerum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium solani*, *Fusarium stilboides* e *Haematonectria ipomoeae* (anamorfo *Fusarium striatum*). Este é o primeiro relato da presença de *Fusarium dimerum* e *Haematonectria ipomoeae* em cafeeiro. *Haematonectria ipomoeae* é uma espécie homotática, produzindo peritécios com facilidade em substrato natural e meio de cultura. Em seguida, testes de patogenicidade foram realizados em plântulas das cultivares Acaia Cerrado e Catuaí, utilizando *Fusarium equiseti*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium solani* e *Haematonectria ipomoeae*. Durante um período de seis meses, não foi possível observar sintomas característicos de fusariose nas plantas inoculadas. Possivelmente, esse prazo não seja suficiente para expressão e observação dos sintomas. Uma vez que seis das espécies de *Fusarium* foram recuperadas a partir de sementes aparentemente sadias e de grãos provenientes de plantas com sintomas de murcha, a possibilidade de transmissão de *Fusarium* spp. por meio de sementes durante a produção de mudas deve ser levada em consideração em estudos futuros. *Fusarium xylarioides* não foi encontrado nas lavouras estudadas em Minas Gerais, sendo o fungo confirmado como praga quarentenária.

---

\* Comitê Orientador: Ludwig Heinrich Pfenning - UFLA (Orientador) e Mário Lúcio Vilela de Resende – UFLA

## ABSTRACT

ALMEIDA, Anderson Resende. **Species of *Fusarium* associated to coffee plants (*Coffea arabica* L.).** 2003. 87 p. Dissertation (Master Program in Phytopathology)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.\*

In coffee plantations in Brazil a syndrome of wilting has been observed that takes the plants to death in about a few weeks. From these plants, *Fusarium* species can be isolated frequently. In the field, infected plants turn yellow, become wilt and die in a short period of time. In the nursery, the main symptoms are rotting of stem seedlings with one pair of cotyledonous leaves. In several countries of Africa, the vascular wilt or "traqueomycosis" caused by *Gibberella xylarioides* (anamorph *Fusarium xylarioides*) is considered to be the major disease to coffee production. Studies on characterization of the species associated to coffee plants and pathogenicity are scarce tests. Therefore, the present work has the following objectives: a) to isolate, characterize and identify species of *Fusarium* associated to coffee trees with wilt symptoms and b) to test the pathogenicity of selected isolate samples. *Fusarium* species were recovered from stems, roots and fruits collected from coffee trees with wilt symptoms. The samples were collected in the districts of Lavras, Guapé, Machado, Muzambinho, Bambuí, South of Minas Gerais, Capelinha and North of Minas Gerais. Commercial seeds and stems of seedlings with rotting symptoms were also used. Seven species were characterized and identified: *Fusarium dimerum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium solani*, *Fusarium stilboides* and *Haematonectria ipomoeae* (anamorph *Fusarium striatum*). *Fusarium dimerum* and *Haematonectria ipomoeae* were reported for the first time associated to coffee. *Haematonectria ipomoeae* is a homothallic species which produces perithecia easily in natural substratum and culture media. Pathogenicity tests were accomplished in coffee seedlings of variety Acaia cerrado and Catuaí, using *Fusarium equiseti*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium solani* and *Haematonectria ipomoeae*. During a period of six months, characteristic symptoms of fusariosis could not be observed in the inoculated plants. Probably, that period is not enough for expression and observation of the symptoms. Once six species of *Fusarium* have been recovered from apparently healthy seeds and grains of plants with wilt symptoms, the possibility of transmission of *Fusarium* spp. by seeds during the seedlings production should be taken in consideration for future studies. *Fusarium xylarioides* was not found in the areas studied in Minas Gerais, confirming the quarantine status of the fungi.

---

\* Guidance Committee: Ludwig Heinrich Pfenning - UFLA (adviser), Mário Lúcio Vilela de Resende - UFLA (co-adviser)

## **CAPÍTULO 1**

### **Fusariose em *Coffea* sp no Brasil e no Mundo**

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O café está entre os principais produtos agrícolas do Brasil, respondendo por aproximadamente 4,76% do total (IBGE 2001). A área cultivada é de aproximadamente 2,4 milhões de hectares, com produção de 46 milhões de sacas na safra 2002/03. O café foi responsável pelo ingresso de 1,4 bilhão de dólares no país, em 2001 (Anuário 2002/03). Além deste contexto econômico, a cafeicultura emprega grande contingente de mão-de-obra, desenvolvendo importante papel nos municípios onde é produzido.

Atualmente, o parque cafeeiro nacional é constituído de cerca de cinco bilhões de plantas (Anuário 2002/03) que são suscetíveis a, pelo menos, uma entre as principais doenças que atacam a cultura. Entretanto, a ocorrência e a maior ou menor severidade dessas doenças estão diretamente relacionadas ao ambiente, ao patógeno, ao hospedeiro, ao solo e aos fatores predisponentes.

A maioria das doenças que incidem em mudas de cafeeiro no viveiro pode ocorrer também em plantas no campo, dentre elas a fusariose. Essa enfermidade é pouco estudada no Brasil, embora relatos de sua ocorrência sejam relativamente freqüentes (Cardoso, 1977, 1986; Matiello et al., 1992; Vilela et al., 1993; Pfenning & Martins, 2000). O sintoma geralmente observado em viveiro é o apodrecimento do hipocótilo das mudas no estágio de “palito de fósforo”, antes da liberação das folhas cotilédones, com conseqüente queda dos cotilédones. No campo, as plantas infectadas amarelecem, murcham e morrem em um curto período de tempo (Cardoso, 1977). Este autor identificou o agente etiológico da murcha de cafeeiro como *Fusarium oxysporum*.

Em outros relatos, os autores apontam também espécies de *Fusarium* como causadores da murcha, entretanto, somente decorrente da análise da sintomatologia ou isolamento (Matiello et al., 1992; Vilela et al., 1993; Pfenning & Martins, 2000). Nesses estudos não foram incluídos experimentos buscando

esclarecer a patogenicidade ou mesmo quais dentre as espécies de *Fusarium* estariam diretamente relacionadas com os sintomas da doença. Não há metodologia que permita estimar as perdas sofridas por produtores, causadas por fusariose.

No Continente Africano, *Fusarium xylarioides* foi indicado como o agente etiológico da “traqueomicose” ou murcha vascular do cafeeiro (Steyaert, 1948). Posteriormente, foi encontrada a fase ascogênica associada, identificada como *Gibberella xylarioides* Heim et Saccas (Booth & Waterston, 1964). Esta moléstia é considerada uma das mais importantes, pois afeta plantas de *Coffea arabica*, *Coffea canephora*, *Coffea liberica*, *Coffea dewevrei* e *Coffea excelsa* (Kranz, 1962; Kranz e Mogk, 1973; Blittersdorff & Kranz, 1976). O patógeno coloniza os dutos vasculares e é transmitido via aérea por ascósporos e conídios. As medidas de controle restringem-se ao manejo (Flood & Brayford, 1997).

Devido à ocorrência de murcha vascular em plantas de cafeeiro no Brasil e a ausência de estudos de caracterização das espécies de *Fusarium* associadas a estas plantas, o presente trabalho teve como objetivos: a) isolar, caracterizar e identificar espécies de *Fusarium* associadas a plantas de cafeeiro com sintomas de murcha e b) testar a patogenicidade de alguns isolados selecionados.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Fusariose em cafeeiro em outras partes do mundo

Na Índia, vários patógenos que afetam o sistema radicular do cafeeiro foram reportados, principalmente em viveiro na fase de plântula. Entre os basidiomycetes, foram citados *Fomes noxius*, causando “brown root disease” e *Poria hypolateritia* ocasionando “red root disease”; entre os ascomycetes, *Rosellinia arcuata* e *R. bunodes*, promovendo a “black root disease” (Kannan, 1986; Govindarajan, 1988; Kannan, 1995). Outro patógeno, o qual induziu “black root rot” e murcha em mudas de cafeeiro, foi identificado como *Fusarium bulbigenum* Cooke et. Mass. var. *coffeeae*. Venkatasubbaia et al. (1984) estudaram patógenos associados à rizosfera de plântulas de cafeeiro e notaram uma preponderância de *Fusarium*, sem identificar as espécies.

*Fusarium oxysporum* foi descrito como sendo o agente etiológico da podridão de raízes em cafeeiros (*Coffea arabica* L) (Nataraj, 1973). A doença provocada por este patógeno é, na Índia, também chamada de “santavery root disease”, por ter sido descrita pela primeira vez no estado de Santavery, em Chikmagalur District, Karnataka. Esta doença também recebeu os nomes de “kari roga”, “wilt” ou “*Fusarium* root rot”. Seguindo conceito de Wellman (1954), o patógeno foi denominado *Fusarium oxysporum forma specialis coffeae* (Muthappa 1977), contudo, sem conduzir experimentos para comprovar a sua especificidade.

As espécies *Fusarium solani* var. *minus* Wollenw. e *Cylindrocarpon tenue* Bugn. foram descritas como sendo responsáveis em promover murcha em plantas e podridão de raízes de cafeeiros (Rahman & Subramanian, 1967; Subramanian & Govindarajan, 1968).

Relatos de espécies de *Fusarium* associadas a cafeeiros constam, ainda, em vários outros países. Em Cuba, *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* (=

*F. subglutinans*) é conhecida como espécie de *Fusarium* infectando raízes do cafeeiro (Martinez & Cachon, 1992) e *Fusarium lateritium* o responsável por uma depressão parasitária dos cafeeiros em Madagascar (Dadant, 1960). Em Porto Rico, os sintomas de fusariose observados em cafeeiros (*Coffea arabica* L.) foram o amarelecimento, murcha, queda da folhagem e seca da planta. A parte basal do caule e raízes apresentava-se deteriorada e com coloração escura (Garcia, 1945). Em mudas, foi descrita uma interação entre *Meloidogyne incognita* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *coffeeae* causando necrose das raízes, murcha e enfezamento das mudas (Négron & Acosta, 1989). Outro patossistema complexo envolvendo *Meloidogyne* e *Fusarium* foi observado na Costa Rica, promovendo grandes perdas em lavouras de *Coffea arabica*. Esta moléstia é conhecida como “corky root”, sendo os patógenos envolvidos *Meloidogyne arabicida* e *Fusarium oxysporum*. Entretanto, a interação entre *Meloidogyne exigua* e *Fusarium oxysporum* não resulta em “corky-root”, sendo, portanto, *Meloidogyne arabicida* o agente predisponente para a subsequente invasão por *Fusarium oxysporum* (Bertrand et al., 2000; 2002).

Na África do Sul, foram registradas várias espécies de *Fusarium* presentes na rizosfera de cafeeiros, identificadas como *Fusarium chlamydosporum*, *Fusarium compactum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium lateritium*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium nigamai*, *Fusarium scirpi*, *Fusarium semitectum* e *Fusarium solani*, sendo que *Fusarium lateritium*, *Fusarium nigamai*, *Fusarium oxysporum* e *Fusarium solani* causaram podridão de raízes e impediram o crescimento de mudas de cafeeiro em viveiros (Opperman, 1993). No Quênia, foram descritas “Fusarium bark disease” sendo *Fusarium stilboides* o agente etiológico, e “Fusarium Root Disease” tendo como agente etiológico *Fusarium solani* (Mbogo, 1999). Na Nigéria, foram observadas murcha e morte de mudas de cafeeiro, em viveiros, provocadas por *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* e *Fusarium*

*culmorum* (Filani, 1975). *Fusarium oxysporum* Schlecht. ex Fries, *Fusarium stilboides* Wollenw. e *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. foram recuperados de sementes e frutos de café como sendo patogênicos (Siddiqi, 1964; Venkatasubbaiah et. al., 1984; Muthappa, 1984; Fawole, 1990). Um ascomiceto associado a sementes foi identificado como *Nectria haematococca*. O estudo não inclui uma caracterização do fungo (Muthappa, 1984).

Em certos países do Continente Africano, como Uganda ou Quênia, importantes regiões produtoras de café, a fusariose do sistema vascular é a doença mais importante do cafeeiro. Traqueomicose é outra denominação desta moléstia sendo, *Fusarium xylarioides*, o agente etiológico (Steyaert, 1948). Esta doença foi primeiramente observada na variedade *Coffea excelsa* na África (Blittersdorff & Kranz, 1976). Este patógeno está presente ainda na República Centro Africana (RCA), República Democrática do Congo (Zaire), Tanzânia, Costa do Marfim e na Etiópia, promovendo grandes prejuízos principalmente em *Coffea canephora* e *Coffea arabica* (Kranz, 1962; Kranz & Mogk, 1973). Este fungo foi caracterizado e ilustrado em detalhes por Gerlach & Nirenberg (1982) e considerado uma boa espécie (Booth & Waterson, 1964; Booth, 1971; Gerlach 1978). A fase ascogênica é conhecida como *Gibberella xylarioides* (Booth & Waterston, 1964). O fungo invade o sistema vascular e, após um curto período de incubação, causa murcha e, finalmente a morte da planta (Blittersdorff & Kranz, 1976). A resistência a *Gibberella xylarioides* em cafeeiro (*Coffea arabica* L.) foi descrita como sendo de natureza horizontal (Van der Graaff & Pieters; 1978; Pieters & Van der Graaff, 1980).

Recentemente, esta enfermidade despertou de novo a atenção das autoridades e produtores na Uganda, devido à rápida dispersão do patógeno de um foco localizado no Congo para aquele país, que atingiu e destruiu plantações de *Coffea canephora* (Hindorf, 1998). O sintoma dessa mazela em *Coffea arabica* na Etiópia foi murcha de ramos, principalmente de um lado das plantas,



que gradualmente progrediu por todo hospedeiro, com subsequente queda das folhas e seca completa das plantas. Os tecidos internos do caule exibiram coloração marrom ou vermelho-escuro. Sobre a casca dos ramos e troncos das plantas em padecimento e perecidas observou-se um grande número de peritécios marrons, liberando, em grande quantidade, ascósporos de *Gibberella xylarioides* (Girma et al., 2001). Os autores concluíram que o patógeno não é encontrado nas sementes, portanto, não podem ser consideradas fonte de inóculo.

## 2.2 Fusariose em cafeeiro no Brasil

Os primeiros relatos de fungos patogênicos de café no país são de autoria de Saccá (1917). Uma espécie que causa podridão de frutos foi identificada como *Fusarium coffeicola* P. Henn.; outras são responsáveis por podridão em raízes, como *Fusarium heterosporium* e *Fusarium pallens* Ness (Saccá, 1917). Os nomes das espécies mencionadas anteriormente não estão mais em uso nos sistemas modernos de classificação e necessitam de revisão.

O primeiro relato de murcha vascular de cafeeiro no Brasil ocorreu no estado do Paraná e *Fusarium oxysporum* foi mencionado como agente etiológico (Cardoso, 1981). No hipocótilo de plântula em viveiros, os sintomas iniciam-se por pequenas manchas verde-escuras que aumentam em tamanho tornando-se castanhas, necróticas e deprimidas. A porção atingida perde a consistência dos tecidos e com isso, a parte superior tomba e o cotilédone cai. Entretanto, isolamentos realizados em plântulas de cafeeiro com estes sintomas revelaram a presença de *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium verticillioides* e *Fusarium semitectum*. Os sintomas observados subsequentemente ao estágio de “palito de fósforo” foram atrofiamento das mudas e rachadura longitudinal, rodeada por tecido cicatrizado de cor castanho-claro a castanho-escuro, com forma normalmente elíptica ao longo da haste.

Testes de patogenicidade foram confirmados para todas as espécies, porém o grau de agressividade variou entre elas (Cardoso, 1977; Cardoso et al., 1977; Cardoso et al., 1984, Cardoso & Sera, 1985; Cardoso, 1986).

Dentre as diferentes espécies de *Fusarium* encontradas associadas a sementes de café e a mudas com sintomas de podridão no estado do Paraná, foram *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium verticillioides* e *Fusarium equiseti*. A espécie *Fusarium oxysporum* foi patogênica a mudas de café da variedade Mundo Novo (Cardoso, 1977; Cardoso et al., 1977, Cardoso, 1978).

O arranjo espacial das plantas de cafeeiro doentes no campo ocorre em reboleiras e caracteriza-se pela murcha da copa, que avança para os ramos inferiores da planta. Os ramos escurecem, as folhas tornam-se cloróticas, flácidas e secam. A desfolha da parte superior das plantas pode ocorrer parcialmente ou totalmente, enquanto as folhas dos ramos inferiores permanecem com aspecto normal. A murcha pode ser lenta ou rápida, dependendo do grau de invasão dos tecidos do caule e das raízes. Os tecidos internos da casca evidenciam um escurecimento do câmbio, atingindo o xilema. Externamente, observam-se numerosas fendas verticais de fundo escuro revestidas por uma película morta de aspecto normal. Em casos de infecção generalizada, ocorre escurecimento do tronco com hipertrofia da casca e podridão seca dos tecidos. Quando a infecção é localizada, o tronco pode apresentar algumas regiões internas escurecidas, sem evidência externa na casca. Nas raízes mais próximas à superfície do solo, os sintomas são semelhantes aos do tronco, mas a podridão apresenta-se úmida. O patógeno foi identificado como *Fusarium oxysporum* f. sp. *coffae*, infectando árvores de café no estado do Paraná (Cardoso, 1986).

No sul de Minas Gerais e na região serrana do Espírito Santo, os sintomas de fusariose em cafeeiros foram amarelecimento da parte aérea,

subseqüente murcha e morte das plantas. A casca dos ramos apodrecida e os vasos do tronco apresentaram coloração marrom-avermelhada. Estes sintomas foram observados em lavouras de 15 anos de idade, normalmente dois anos após a realização de podas (Matiello et al., 1992; Vilela et al., 1993; Matiello & Barros, 1993). Pfenning & Silva (1999) e Pfenning & Martins (2000) recuperaram de cafeeiros com sintomas de murcha *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium stilboides* e uma espécie de *Nectria* homotálica, com anamorfo do grupo "*Fusarium solani*". Nestas ocorrências, as causas da doença não foram esclarecidas, ou, mesmo, quais dentre as espécies de *Fusarium* estariam diretamente relacionadas com sintomas da doença. Estas inferências foram realizadas com base na sintomatologia apresentada pelas plantas doentes como sendo semelhantes àquelas descritas na literatura. Sintomas causados supostamente por *Fusarium* foram observados tanto em cafeeiros com idade acima de quatro anos, quanto em plântulas em viveiros e germinadores (Zambolim et al., 1999).

Durante os estudos de qualidade da bebida de café realizados na década de 1940, *Fusarium concolor* foi citado como o responsável por um produto de qualidade inferior (Krug 1940; 1945). Nestas duas últimas décadas, vários trabalhos de levantamento da ocorrência de populações fúngicas associadas a frutos e grãos de café foram realizados e em todos foram encontradas espécies de *Fusarium* (Chalfoun et al., 1984; Teixeira et al., 1987; Carvalho et al., 1989; Meirelles, 1990; Alves & Castro, 1998; Freitas, 2000).

### 2.3 Epidemiologia

A fusariose que ocorre no Continente Africano, chamada traqueomicose, causa murcha e morte subseqüente das plantas. O agente etiológico *Gibberella xyloarioides* produz peritécios e conídios na casca de troncos e ramos das plantas

em padecimento e mortas (Girma et al., 2001). O fato de o patógeno atacar os dutos vasculares aliado ao conhecimento limitado de sua variabilidade e da epidemiologia da doença, as medidas de controle são restritas (Flood & Brayford, 1997). A transmissão do patógeno é por ascósporos e conídios dispersos por chuva, vento, insetos e por trabalhadores durante tratamentos culturais. Os principais fatores para disseminação são o clima, estado fisiológico e nutricional da planta, variedade suscetível e tratamentos culturais.

A fusariose que ocorre no Brasil apresenta sintomas semelhantes aos da traqueomicose na África, porém, *Gibberella xylarioides* é uma praga quarentenária. Como não há estudos conclusivos sobre a etiologia, informações sobre o ciclo da doença e fatores que condicionam a sua ocorrência e disseminação são hipotéticas.

A fusariose no campo foi observada em plantações com dois anos de idade. Neste caso, as mudas transplantadas poderiam estar contaminadas (Zambolim et al., 1999). Em plantações com idade superior, a fusariose ocorreu principalmente dois anos após realização de podas nas plantas, coincidindo com épocas de intensas precipitações pluviométricas (Matiello et al., 1992; Vilela et al., 1993; Matiello & Barros, 1993). O pH do solo entre 4,5-6,0 é favorável ao desenvolvimento do patógeno (Cardoso, 1984).

Espécies de *Fusarium* podem atuar como patógenos do sistema radicular e vascular de cafeeiros. Várias espécies ocorrem também como invasoras secundárias ou patógenos fracos, saprófitas e como endofíticas na parte aérea e em grãos e sementes, sem causar alterações visíveis no hospedeiro. Todavia, os fungos endofíticos presentes tanto nas sementes como nas raízes e na parte aérea do cafeeiro podem, em condições especiais, se tornar patogênicas. Ao contrário da traqueomicose conhecida na África, essa infecção sistêmica e latente pode ser uma das principais causas para a transmissão de agente etiológico da murcha no Brasil, que ocorre tanto em plântulas quanto em plantas adultas.

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, E.; CASTRO, H. A. Fungos associados ao café (*Coffea arabica* L) nas fases de pré e pós-colheita em lavouras da região de Lavras. **Summa Phytopathologica**, v.24, n.1, p.4-7, 1998.

AZEVEDO, N. Relação bibliográfica de fungos e doenças do cafeeiro. **Rodriguesia**, Rio de Janeiro, 1936. Número Especial.

BERTRAND, B.; NUNEZ, C.; SARAH, J. L. Disease complex in coffee involving *Meloidogyne arabicida* and *Fusarium oxysporum*. **Plant Pathology**, v.49, n 3, p.383-388, 2000.

BERTRAND, B. et al. Resistance of cultivated coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*) trees to corky-root caused by *Meloidogyne arabicida* and *Fusarium oxysporum*, under controlled and field conditions. **Crop Protection**, v.21, n.9, p. 713-719, 2002.

BLITTERSDORFF, R.; KRANZ, J. Comparative studies on *Fusarium xylarioides* Steyaert (*Gibberella xylarioides* Heim et Saccas) the cause of the coffee tracheomycosis. **Journal of Plant Diseases and Protection**, n.83, v.9, p.529-544, 1976.

BOOTH, C. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute (C.M.I.), Kew, Surrey, England 1971. 237p.

BOOTH, C.; WATERSTON, J. M. *Gibberella xylarioides*. **C.M.I. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria**, n.24, Commonwealth Mycological Institute Wallingford, England, 1964.

CARDOSO, R. M. L. Podridão do caule em mudas de café por *Fusarium* spp. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIEIRA, 5., 1977, Guarapari, ES. **Resumos...** Rio de Janeiro: IBC/CERCA, 1977. p 30.

CARDOSO, R.M.L.; MENEZES, J.R.; ROSSETO, E. A. Fungos associados a sementes de café no Estado do Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIEIRAS, 5., 1977, Guarapari, ES. **Resumos...** Rio de Janeiro: IBC/CERCA, 1977. p 28-29.

- CARDOSO, R.M.L.; SERA, T. Reação de materiais de diferentes espécies de *Coffea* a *Fusarium oxysporum* f. sp. *coffeeae* (Garcia) Wellman, no Estado do Paraná-Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIEIRAS, 12., 1985, Caxambu, MG. **Resumos...** Rio de Janeiro: IBC/GERCA, 1985. p.123.
- CARDOSO, R.M.L. Influência da temperatura no crescimento de *Fusarium* spp. causadoras do podridão do caule em mudas de café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIEIRAS, 6., 1978, Ribeirão Preto, SP. **Resumos...** Rio de Janeiro: IBC/GERCA, 1978. p.37.
- CARDOSO, R.M.L. Uma traqueomicose do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) no Estado do Paraná (Brasil), causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *coffeeae* (Garcia) Wellman. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIEIRAS, 9., 1981, São Lourenço, MG. **Resumos...** Rio de Janeiro: IBC/GERCA, 1981. p.125.
- CARDOSO, R.M.L. Ocorrência da murcha vascular do cafeeiro (*Coffea arabica*) no Estado do Paraná – Brasil, induzida por *Fusarium oxysporum* f. sp. *coffeeae*. **Fitopatologia Brasileira**, n.11, v.4, p.753-760, 1986.
- CARDOSO, R.M.L.; OTA, H.; PAVAN, A. Influência da nutrição de cálcio e pH sobre a incidência da murcha vascular do cafeeiro causada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *coffeeae*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIEIRAS, 11., 1984, Londrina, PR. **Resumos...** Rio de Janeiro: IBC/GERCA, 1984. p.48.
- CARVALHO, V. D. de.; CHALFOUN, S. M.; CHAGAS, S. J. R. Relação entre classificação de café pela bebida e composição físico-química e química do grão beneficiado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIEIRAS, 15., 1989, Maringá, PR. **Resumos...** Rio de Janeiro: MIC/IBC, 1989. p.25-26.
- CHALFOUN, S. M.; SOUZA, J. C.; CARVALHO, V. D. Relação entre a incidência de broca *Hypothenemus hampei* Ferrari, 1867 e microorganismos em grãos de café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIEIRAS, 11., 1984, Londrina, PR. **Resumos...** Rio de Janeiro: IBC, 1984. p.149-150.
- DADANT, R. Le dépérissement paraditaire du *Coffea arabica* sur les hauts plateaux de Madagascar. **L'Agronomie Tropicale**, n.15, v.2, p.213-230, 1960.
- FAWOLE, E.A. Isolation and pathogenicity of seed-borne fungi of coffee in Nigeria. **Fitopatologia Brasileira**, n.15, v.4. p.333-336, 1990.

FILANI, G.A. The occurrence and prevention of root and stem rot of coffee seedling in Nigeria. **Plant Disease**, n.59, v.2, p.137-139, 1975.

FLOOD, J.; BRAYFORD, D. Current knowledge of pathogen variability, epidemiology and control of *Fusarium xylarioides*. In: REGIONAL WORKSHOP ON COFFEE WILT DISEASE (*TRACHEOMYCOSIS*). INTERNATIONAL CONFERENCE CENTER, 1., 1997, Kampala, Uganda. **Proceedings**. Kampala, Uganda: Uganda Coffee Development Agency UCDA 1997. p. 76-79.

FREITAS, R. F. **Fungos associados à grãos de café (*Coffea arabica* L.) beneficiados de diversos municípios da região sul de Minas Gerais**. 2000. 72 p. Dissertação (Mestrado Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

GARCÍA, L.A.A. Studies on coffee root disease in Puerto Rico I. A coffee *Fusarium* wilt. **The Journal of Agriculture of The University of Puerto Rico**, v.29, n.1, p. 1-29, 1945.

GERLACH, W. Critical remarks on the present situation in *Fusarium* taxonomy. In: SUBRAMANIAN, C. V. **Taxonomy fungi**. Madras, University Madras, 1978. p. 115-123. (Proc. International Symposium).

GERLACH, W. ; NIRENBERG, H. **The genus *Fusarium*: a pictorial atlas**. Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft. Berlin: Berlin-Dahlem. Parey, 1982. 406 p.

GIRMA, A.; HULLUKA, M.; HINDORF, H. Incidence of tracheomycosis, *Gibberella xylarioides* (*Fusarium xylarioides*), on *Arabica coffee* in Ethiopia. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 108, n. 2, p. 136-142, 2001.

GOVINDARAJAN, T.S. A review on the incidence of root disease on coffee and their management. **Journal of Coffee Research**, n.18, v.1, p.16-28, 1988.

HINDORF, H. Current diseases of *Coffea arabica* and *Coffea canephora* in East Africa causing crop losses. **Medelingen-Faculteit-Landbouwkundige-en-Toegepast-Biologische-Wetenschappen-Universiteit-Gent.**, v.63, n.3A, p. 861-865, 1998.

KANNAN, N. Root disease of coffee. **Indian Coffee**, v.12, n.50, p.21-24, 1986.

- KANNAN, N. Technical report on diseases affecting coffee in India: a review. **Indian Coffee**, v.8, n.59, p.11-17, 1995.
- KRANZ, J. Coffee disease in Guinea. **FAO Plant Protection Bulletin**, n.10, v.5, p.7-9, 1962.
- KRANZ, J.; MOGK, M. *Gibberella xylarioides* Heim et Saccas on Arabica coffee in Ethiopia. **Phytopathology**, n.78, p.365-366, 1973.
- KRUG, H. P. Cafés duros. **Revista do Instituto de Café do Estado, São Paulo, Campinas**, v.25, n.159, p.636-638, 1940.
- KRUG, H. P. Concepção moderna sobre a origem dos cafés duros. **Revista de Agricultura, Piracicaba**, v.20, n.12, p.417-426, 1945.
- MATIELLO, J.B.; ALMEIDA, S.R. ; MIGUEL, A.E. Ocorrência de Fusariose em cafeeiro no Sul de Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 18., 1992, Araxá, MG. Resumos... Rio de Janeiro: MAARA PROCAFÉ, 1992. p.27-30.
- MATIELLO, J.B. ; BARROS, U.V. Ocorrência de Fusariose em cafeeiros no Espírito Santo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 19., 1993, Três Pontas, MG. Resumos... Rio de Janeiro: MAARA PROCAFÉ, 1993. p 27.
- MARTINEZ, B. ; CACHON, A. K. *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* Wollenw. & Reink., pathogen of coffee plants. **Revista de Protection Vegetal, Cuba**, v.1, p.81-82, 1992.
- MBOGO, S.N. Better Coffee Farming: Coffee diseases and their control. **Kenia Coffee**, n.64, v.755, p.2967-2973, 1999.
- MEIRELLES, A. M. A. Ocorrência e controle da microflora associadas aos frutos de café (*Coffea arabica* L.) provenientes de diferentes localidades do estado de Minas Gerais. 1990. 71 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)- Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- MUTHAPPA, B.N. *Fusarium* root diseases of coffee. **Journal of Coffee Research**, v.7, n.3, p.79-80, 1977.
- MUTHAPPA, B.N. Seed-Borne fungi of coffee. **Journal of Coffee Research**, v.14, n.3, p.104-107, 1984.



NATARAJ, T. Preliminary studies on pathogenicity of *Fusarium oxysporum* on arabica coffee plants as a possible cause of root rot. **Journal of Coffee Research**, v.3, n.3, p.58-60, 1973.

NEGRON, J. A.; ACOSTA, N. The *Fusarium oxysporum* f. sp. *coffeeae* - *Meloidogyne incognita* complex in 'Bourbon' coffee. **Nematropica**, v.19 n.2, p.161-168, 1989.

OPPERMAN, L. Soil and root inhabiting fungi occurring in some southern African coffee Estates, and their effect on coffee seedlings in the greenhouse. **Phytophylactica**, v.25, n.4, p.289-291, 1993.

PFENNING, L.H.; MARTINS, M. F. Espécies de *Fusarium* associadas ao cafeeiro na região sul de Minas Gerais. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 23., 2000, Campinas, SP. **Resumos...** Campinas: 2000. p. 233.

PFENNING, L.H.; SILVA, C. F. Isolamento, caracterização e identificação de espécies de *Fusarium* associados ao cafeeiro na região Sul de Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIEIRAS, 25., 1999, Franca, SP. **Anais...** Franca, SP: 1999. p.56-58.

PIETERS, R. ; VAN DER GRAAFF, N. A. Resistance to *Gibberella xylarioides* in *Coffea arabica*: Evaluation of screening methods and evidence for the horizontal nature of the resistance. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, v.86, n.6, p.37-43, 1980.

RAHMAN, M.U.; SUBRAMANIAN, S. A new *Fusarium* wilt of coffee (*Coffea arabica*) in south India. **Plant Disease**, v.51, n.9, p. 758-759, 1967.

SACCÁ, R.A. **Moléstias cryptogâmicas do cafeeiro**. São Paulo: Secretaria de Agricultura, Comércio e Obras Públicas 1917. 101 p.

SIDDIQI, M. A. Fungos flora of *Coffea arabica* in Nyasaland. **Transaction British Mycological Society**, n.47, v.2, p.281-284, 1964.

STEYAERT, R.L. Contribution a L'Étude des parasites des végétaux du Congo Belge. **Bulletin Society Royale Botanique Belgique**, v.2, n.30, p.11-49, 1948.

SUBRAMANIAN, S.; GOVINDARANJAN, T.S. A new root disease of coffee in India. **Plant Disease**, v.52, n.10, p.773-774, 1968.

- TEIXEIRA, A. R. R. et al. Observações sobre a flora micológica e bacteriológica de frutos de café coletados e processados de diferentes maneiras. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIEIRA, 14., 1987, Campinas, SP. Resumos... Rio de Janeiro: IBC, 1987. p.122-25.
- VAN DER GRAAFF, N.A. ; PIETERS, R. Resistance levels in *Coffea arabica* to *Gibberella xylarioides* and distribution pattern of the disease. **Netherlands Plant Pathology**, v.84, n.4, p.117-120, 1978.
- VENKATASUBBAIAH, P.; SHEKARA SHETTY, H.; SAFEEULLA, K.M. Seed-borne nature of *Fusarium solani* in *Coffea arabica* and its role in seedling rot. **Indian Phytopathology**, v.37, n.1, p.158-160, 1984.
- VILELA, J. et al. Recuperação de cafeeiros atacados por fusariose, no Sul de Minas Gerais: resultados preliminares. In: CONGRESSO BRASILEIRO SOBRE PESQUISAS CAFEIEIRAS, 19., 1993, Três Pontas, MG. Resumos... Rio de Janeiro: MAARA PROCAFÉ, 1993. p.105-106.
- WELLMAN, F. L. The *Fusarium* phase of the root-disease complex in coffee. **Phytopathology**, v.44, n.9, p.509, 1954.
- ZAMBOLIM, L. et al. Manejo integrado das doenças do cafeeiro. In: ZAMBOLIM, L. **Encontro sobre produção de café com qualidade**. Viçosa MG: UFV, 1999. p.134-215.

## **CAPÍTULO 2**

**Isolamento, caracterização e identificação de espécies de *Fusarium* associadas a *Coffea arabica* L.**

## 1 RESUMO

ALMEIDA, Anderson Resende. Isolamento, caracterização e identificação de espécies de *Fusarium* associadas a *Coffea arabica* L. In: \_\_\_\_\_. **Espécies de *Fusarium* associadas ao cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 2003. p. 17-51. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

No Brasil e no mundo já foram registradas mais de 20 espécies de *Fusarium* associadas à parte aérea do cafeeiro, ao sistema radicular, aos frutos, grãos e sementes. Algumas dessas espécies são consideradas patogênicas. Entretanto, não há evidências claras de quais espécies, e em que condições podem causar danos à planta e/ou depreciar os grãos. Conceitos novos, adotados para a caracterização de espécies e populações, dificultam ainda mais a situação. Os objetivos deste trabalho foram isolar, caracterizar e identificar espécies de *Fusarium* associadas a plantas com sintomas de murcha, a grãos de café provenientes de plantas doentes, a mudas com podridão no hipocótilo e a sementes comerciais utilizadas para a produção de mudas. A recuperação de *Fusarium* foi por meio do isolamento direto de troncos e raízes de cafeeiros, uso de câmara úmida e desinfestação superficial do material vegetal, com posterior incubação em meio de cultura. As espécies identificadas foram *Fusarium dimerum*, *Haematonectria ipomoeae* (anamorfo *Fusarium striatum*), *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium semitectum* e *Fusarium stilboides*.

---

\* Comitê Orientador: Ludwig Heinrich Pfenning - UFLA (Orientador) e Mário Lúcio Vilela de Resende - UFLA(Co-orientador)

## 2 ABSTRACT

ALMEIDA. Anderson Resende. Isolation, characterization and identification of species of *Fusarium* associated to coffee plants. In: \_\_\_\_\_. **Species of *Fusarium* associated to coffee plants (*Coffea arabica* L.)**. 2003. p. 17-51. Dissertation (Master Program in Phytopathology)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.\*

More than 20 species of *Fusarium* have been recorded from coffee plants in Brazil and in the world living in association with the aerial part of the plant, the root system as well as fruits, grains and seeds. Some species are considered to be pathogenic. Nevertheless, there is no clear evidence what species, under what conditions, could cause disease or act on the quality of the product. New concepts applied to the characterization of species and populations turn situation even more complex. The objectives of this work were to isolate, characterize and identify species of *Fusarium* associated to coffee plants and seeds with wilt symptoms in the field, in seedlings with stem rot and on commercial seeds used for seedling production. The isolation of *Fusarium* was by three proceedings, direct isolation from stems and roots of coffee trees with wilt symptoms, use of moist chamber and surface sterilization of different plants material followed by incubation in petri dishes. The species identified were *Fusarium dimerum*, *Haematonectria ipomoeae* (anamorph *Fusarium striatum*), *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium semitectum* e *Fusarium stilboides*

---

\* Guidance Committee: Ludwig Heinrich Pfenning - UFLA (adviser), Mário Lúcio Vilela de Resende - UFLA (co-adviser)

### 3 INTRODUÇÃO

Relatos da ocorrência de espécies de *Fusarium* associadas a cafeeiros com sintomas de murcha são relativamente freqüentes, mas raros são os estudos de patogenicidade destes fungos. No Paraná, murcha vascular em *Coffea arabica* cultivar Mundo Novo foi constatada e caracterizada como sendo induzida pela espécie *Fusarium oxysporum* f. sp. *coffeeae* (Cardoso 1981, 1986). Na região serrana do Espírito Santo e em Boa Esperança, sul de Minas Gerais, foram encontradas lavouras de café com sintomas de fusariose (Matiello & Barros 1993; Matiello et al., 1992; Vilela et al., 1993). No município de Lavras, Sul de Minas, foram recuperadas de plantas com sintomas de murcha no campo várias espécies identificadas como *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium verticillioides* (sin. *Fusarium moniliforme*), *Fusarium equiseti*, *Fusarium stilboides* e um ascomiceto homotático do grupo *Nectria*, com anamorfo do complexo "*Fusarium solani* (Pfenning & Silva, 1999; Pfenning & Martins, 2000).

Entretanto, não ficou esclarecido quais as causas ou, mesmo, quais espécies de *Fusarium* estariam diretamente relacionadas com os sintomas da doença. Estas inferências basearam-se na sintomatologia apresentada pelas plantas doentes e aquelas descritas na literatura.

O mesmo ocorre com plântulas no estágio de "palito de fósforo", com podridão de hipocótilo. Várias espécies de *Fusarium* foram recuperadas dessa podridão, dando evidências de que a etiologia da doença poderia ser complexa (Cardoso et al., 1977).

A ocorrência de *Fusarium* spp. em frutos e grãos de café, em conjunto com outros gêneros e espécies de fungos, foi freqüentemente associada a uma qualidade inferior da bebida de café (Krug, 1940; 1945; Chalfoun, 1984;

Teixeira et al., 1987; Carvalho et al., 1989; Meirelles, 1990; Alves, 1998; Freitas, 2000).

Poucos trabalhos envolvendo *Fusarium* em cafeeiro têm sido realizados. Por esta razão há necessidade de um melhor esclarecimento sobre quais espécies de *Fusarium* são encontradas nas diferentes fases de desenvolvimento do cafeeiro, bem como nas diferentes partes do tecido vegetal, seja de plantas com sintomas de fusariose ou de plantas assintomáticas.

Os objetivos deste trabalho foram isolar, caracterizar e identificar espécies de *Fusarium* associadas a plantas com sintomas de murcha, a grãos de café provenientes de plantas doentes, a mudas com podridão no hipocótilo e a sementes comerciais utilizadas para a produção de mudas.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Localidades de amostragem

O material vegetal utilizado neste trabalho foi coletado em fazendas de café onde houve registro da ocorrência de murcha dos cafeeiros com posterior morte, localizadas nos municípios de Lavras, Guapé e Machado. Mudas foram coletadas no viveiro da Universidade Federal de Lavras (UFLA) para análise. Foram utilizadas, ainda, amostras provenientes de fazendas dos municípios de Muzambinho, Bambuí e Capelinha, todos localizados no estado de Minas Gerais (Tabela 1).

TABELA 1 - Procedência do material vegetal utilizado para isolamento

Fazendas	Localização	Cultivar	Idade(anos)	Espaçamento	Material
Lavras	21 <sup>o</sup> 17' S 45 <sup>o</sup> 07' W	Catuai	10	3,5 x 1,0 m	raiz, caule, frutos
Guapé	20 <sup>o</sup> 48' S 46 <sup>o</sup> 00' W	Mundo Novo	17	4,0 x 1,0 m	raiz e caule
Machado	21 <sup>o</sup> 39' S 45 <sup>o</sup> 55' W	Mundo Novo	30	4,0 x 1,0 m	raiz, caule e frutos
Muzambinho	21 <sup>o</sup> 22' S 46 <sup>o</sup> 31' W	Mundo Novo	27	3,0 x 2,0 m	caule
Bambuí	20 <sup>o</sup> 00' S 45 <sup>o</sup> 58' W	n.d.	n.d.	n.d.	caule
Capelinha	17 <sup>o</sup> 41' S 42 <sup>o</sup> 31' W	n.d.	n.d.	n.d.	caule, raiz
UFLA	21 <sup>o</sup> 14' S 45 <sup>o</sup> 59' W	Acaiá Cerrado	n.d.	n.d.	sementes e plântulas



Na análise foi incluído um lote de sementes de café utilizadas no viveiro da UFLA para produção de mudas, que resultou em grandes perdas. As plântulas apresentaram, no estágio de “palito de fósforo”, podridão no hipocótilo.

## **4.2 Material coletado**

O período de amostragem foi de novembro de 2001 a janeiro de 2003. A escolha das fazendas amostradas ocorreu de acordo com relatos da ocorrência de plantas com sintomas de murcha, segundo técnicos de extensão da região ou dos próprios produtores. A coleta foi aleatória, com amostras de diferentes tipos de cultivares, espaçamento e idade das plantas. Em cada área amostrada coletaram-se das plantas sintomáticas, partes do caule a aproximadamente 20 cm acima do solo, parte do sistema radicular e frutos, conforme Tabela 1.

## **4.3 Isolamento de fungos do gênero *Fusarium***

### **4.3.1 Isolamento direto de troncos e de raízes**

Raízes e troncos provenientes de plantas com sintomas de murcha foram lavados superficialmente em água de torneira com auxílio de uma escova e posterior secagem à sombra. Em seguida, o material foi seccionado, obtendo-se fragmentos de aproximadamente 10 x 5 mm, que foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura SNA<sup>1</sup> dispostas em bancadas de madeira sob condições ambiente de temperatura.

### **4.3.2 Isolamento com uso de câmara úmida**

Parte do material referido no item anterior foi armazenado em sacos plásticos de polietileno, contendo esponjas de algodão embebidas em água, com a finalidade de induzir a produção de peritécios. Geralmente, após doze dias de câmara úmida, iniciava-se a produção dos corpos de frutificação, os quais foram

então transferidos para meio de cultura com auxílio de agulha de vidro e microscópio estereoscópio, visando a obtenção de culturas puras.

#### **4.3.3 Isolamento com desinfestação superficial**

Hipocótilos de plântulas de *Coffea arabica* cultivar Acaiá Cerrado no estádio de “palito de fósforo” com podridão foram submetidos a uma desinfestação. O material foi tratado superficialmente com álcool etílico 70% v/v por 1 minuto, hipoclorito de sódio 2% v/v durante 1 minuto e álcool etílico 98 GL por 30 segundos. Após esta desinfestação, fragmentos de 5 x 3 mm foram retirados e depositados em placas de petri contendo meio de cultura SNA, sendo estas colocadas em laboratório sob condições ambiente de temperatura.

#### **4.3.4 Isolamento de sementes de café**

Para a recuperação do fungo de sementes, foi utilizado o procedimento descrito anteriormente, submetendo as sementes a uma desinfestação superficial.

#### **4.4 Caracterização e identificação de *Fusarium* sp.**

Após a purificação dos isolados, a identificação seguiu o protocolo adaptado de Nelson et al. (1983) e Nirenberg (1990), incluindo cultivo dos isolados em placas com meio SNA e OA<sup>2</sup> (*oatmeal agar*) e mantidos em câmara de crescimento (BOD) a 21°C e fotoperíodo de 12 horas luz negra e 12 horas no escuro. Em meio OA, foi determinada a taxa de crescimento das colônias, por medições diárias dos diâmetros, pigmentação da colônia e formação do micélio aéreo. Em meio SNA, foi realizada a análise de características micromorfológicas, observando frequência, tamanho, formato e origem de microconídios e macroconídios, além de tipos de fiálides e presença ou não de clamidósporos. Após a caracterização dos isolados, a identificação das espécies foi conduzida com a ajuda de chaves de identificação e descrições na literatura

original (Sherbakoff, 1915; Booth, 1971; Gerlach & Nirenberg, 1982; Nelson et al., 1983; Nirenberg, 1990; Burgess et al., 1994; Rossman et al., 1999; Ventura, 1999, 2000).

1. SNA - *synthetic nutrient poor agar* (1g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 1g  $\text{KNO}_3$ ; 0,5g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,5g KCl; 0,2g glicose e 0,2g de sacarose, completar com água destilada e esterilizada para volume de 1000mL).
2. AO - *oatmeal agar* (30g de aveia em flocos cozidos por 2 horas, completar com água destilada e esterilizada para volume de 1000mL).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Sintomatologia observada no campo

Os sintomas observados foram amarelecimento descendente do topo da planta, seguido por murcha e culminando com a seca e morte das plantas. Observou-se que, após a morte da planta, os frutos ainda verdes secavam e permaneciam aderidos aos ramos durante um longo período. Além disso, os tecidos internos do caule apresentavam coloração escura. As plantas afetadas encontram-se em reboleiras de diferentes formas e tamanhos. Estes sintomas surgiram em lavouras com idade entre 10 e 30 anos. Descrições semelhantes foram divulgadas por Cardoso (1986), Matiello et al. (1992) e Vilela et al. (1993) (Figura 1).

A maioria das plantas sintomáticas podia ser arrancada com facilidade, devido ao apodrecimento das raízes. A raiz pivotante apresentava-se podre, seca e esponjosa; apenas poucas raízes laterais sustentavam as plantas. Em períodos de estresse hídrico, ocorreu rápida murcha, seguida por morte das plantas. A região do caule logo abaixo da casca apresentava coloração marrom escuro (Figura 1 e 2).

Na fazenda situada no município de Lavras, MG, as plantas com fusariose também foram positivas quanto à presença de *Xylella fastidiosa* e mosca das raízes (*Chiromyza vittata*). Neste caso, não foi detectada a presença de nematóides, visto que a presença deste pode favorecer a ação de *Fusarium* sp. Cafeeiros atacados por *Meloidogyne arabicina* e *Fusarium oxysporum* na Costa Rica causam uma moléstia chamada de “corky-root” (Bertrand et al., 2000; 2002). Em Guapé, MG, a situação foi parecida, mas não foi encontrada mosca das raízes, mas sim cigarras (*Quesada gigas*) aderidas às raízes (Figura 2).



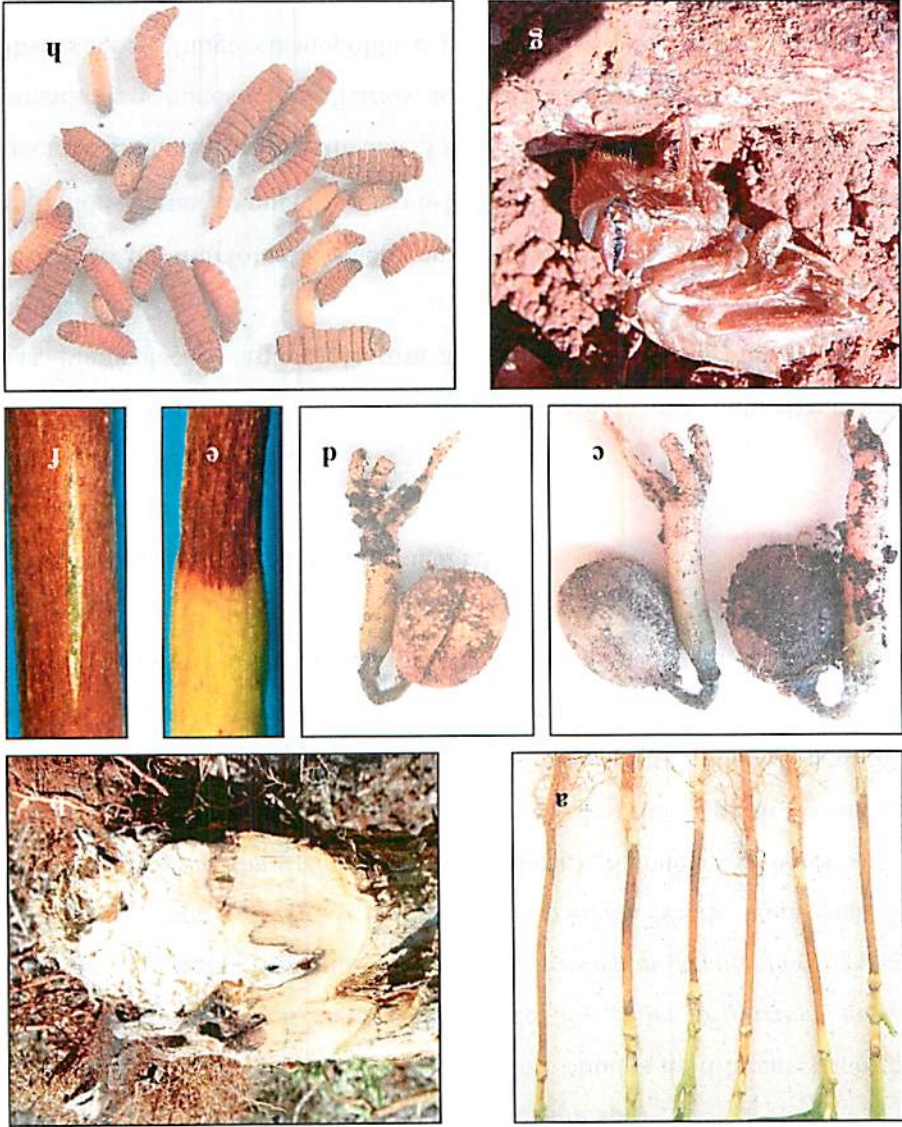
FIGURA 1 (a, b) reboleira de plantas mortas em lavoura de 10 anos de idade; (c) planta morta com frutos secos pendentes; (d) amarelecimento e murcha da planta; (e) colo da planta liberando a casca; (f) reboleira de plantas mortas, lavoura de 30 anos de idade; (g) escurecimento interno do caule.

À primeira vista, os sintomas descritos como sendo de uma fusariose parecem tratar-se de uma etiologia complexa, em que diversas espécies de *Fusarium*, *Xylella fastidiosa*, mosca das raízes e/ou cigarras, estejam agindo concomitantemente. Além disso, fatores nutricionais e estresse hídrico propiciariam o agravamento da moléstia.

Os sintomas de podridão de hipocótilo observados em plântulas no estágio de “palito de fósforo” aparentam os mencionados por Cardoso (1986). Os sintomas iniciaram por pequenas manchas verde-escuras que aumentaram em tamanho e tornaram-se castanhas, necróticas e deprimidas. A porção do caule atingida perdeu a consistência dos tecidos, fazendo com que a parte superior desta tombasse e o cotilédone se desprendesse. Estas lesões foram encontradas com mais frequência na região do hipocótilo, quando as folhas cotiledonares ainda não tinham sido lançadas. Em seguida, os tecidos apodrecidos secaram e toda parte superior da região afetada caiu, deixando os caules eretos, mas sem cotiledonares (Figura 2).

O sintoma observado em mudas com mais de dois pares de folhas foi o escurecimento externo do hipocótilo, adquirindo coloração marrom. Fendas longitudinais de fundo verde foram freqüentemente observadas ao longo do hipocótilo (Figura 2). Isolamentos dos tecidos doentes foram realizados, constatando a presença de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Phoma* sp. Conforme os resultados, não se pode considerar os sintomas observados como sendo de fusariose, devido ao fato de várias espécies, não só de *Fusarium*, mas também de outras tidas como patogênicas ao cafeeiro, estarem agindo ao mesmo tempo. Estas características levam a inferir que esta moléstia seja de etiologia complexa. Portanto, estudos de patogenicidade destes fungos são necessários para maiores esclarecimentos.

FIGURA 2 (a) mudas com lesões no hipocótilo; (b) raiz com podridão; (c, d) plântulas "pálido de fósforo" com podridão no hipocótilo; (e, f) hipocótilo com depressão e com fendas longitudinais; (g) ninfa de cigarra em caule de caféiro; (h) larvas de mosca-das-raízes.



## 5.2 Caracterização e identificação de *Fusarium* sp.

Foi analisado um total de 95 isolados, obtidos de diferentes substratos. Foi possível identificar sete espécies de *Fusarium*, *Fusarium dimerum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium solani*, *Fusarium stilboides* e *Fusarium striatum* Sherb. com sua forma ascogênica *Haematonectria ipomoeae* (Halst.) Samuels & Nirenberg. As características morfológicas das espécies foram descritas a partir de culturas *in vitro*. Linhagens de referência de todas as espécies identificadas foram depositadas na Coleção Micológica de Lavras (CML) (Tabela 2). As principais características utilizadas na identificação encontram-se resumidas na Tabela 3.

### *Fusarium oxysporum* Schlecht. (Figura 3)

**Seção:** Elegans

**Teleomorfo:** desconhecido

**Descrição da cultura:** colônias de crescimento rápido, atingindo 80 mm em sete dias, pigmentação variável de rosa a roxa; micélio aéreo branco geralmente abundante.

**Descrição da morfologia:** microconídios abundantes, unicelulares, formados em fiáides curtas no micélio aéreo 6-15(-20) x 2-3 $\mu$ m; macroconídios formados em esporodóquios, com geralmente 3 septos 25-37(-40) x 3-4 $\mu$ m; clamidósporos formados em abundância, solitários, aos pares e em cadeias.

**Observações:** fungo cosmopolita e patogênico a uma grande diversidade de espécies cultivadas; sintomas são, geralmente, murchas vasculares.

Encontrado em sementes, troncos e raízes de plantas com sintomas de murcha; mudas com sintomas necróticos no caule (canela seca); plântulas no estágio de “palito de fósforo” com podridão no hipocótilo e hastes assintomáticas.

**Cultura representativa:** CML 231



TABELA 2 Lista de acesso das espécies caracterizadas e identificadas na Coleção Micológica de Lavras (CML), Lavras, MG, UFLA, 2003

Espécie	CML	Substrato	Procedência
<i>Haematonectria ipomoeae</i>	228	folha, endofítico	Lavras, MG
<i>Haematonectria ipomoeae</i>	227	Semente café	Lavras, MG
<i>Haematonectria ipomoeae</i>	226	Plântula cafeeiro	Lavras, MG
<i>Haematonectria ipomoeae</i>	213	caule cafeeiro	Lavras, MG
<i>Haematonectria ipomoeae</i>	234	caule cafeeiro	Guapé, MG
<i>Fusarium oxysporum</i>	216	caule cafeeiro	Lavras, MG
<i>Fusarium oxysporum</i>	218	Plântula cafeeiro	Lavras, MG
<i>Fusarium oxysporum</i>	219	caule cafeeiro	Lavras, MG
<i>Fusarium oxysporum</i>	222	caule cafeeiro	Lavras, MG
<i>Fusarium oxysporum</i>	223	Semente café	Lavras, MG
<i>Fusarium oxysporum</i>	225	muda de cafeeiro	Lavras, MG
<i>Fusarium oxysporum</i>	231	Endofítico haste	Lavras, MG
<i>Fusarium solani</i>	217	caule cafeeiro	Machado, MG
<i>Fusarium solani</i>	220	Plântula cafeeiro	Lavras, MG
<i>Fusarium solani</i>	230	caule cafeeiro	Lavras, MG
<i>Fusarium solani</i>	229	caule cafeeiro	Muzambinho, MG
<i>Fusarium equiseti</i>	215	caule cafeeiro	Guapé, MG
<i>Fusarium equiseti</i>	232	caule cafeeiro	Bambuí, MG
<i>Fusarium equiseti</i>	233	Semente cafeeiro	Lavras, MG
<i>Fusarium semitectum</i>	221	Plântula cafeeiro	Lavras, MG
<i>Fusarium semitectum</i>	235	Plântula cafeeiro	Lavras, MG
<i>Fusarium semitectum</i>	236	Semente café	Lavras, MG
<i>Fusarium dimerum</i>	224	caule cafeeiro	Lavras, MG
<i>Fusarium stilboides</i>	237	Semente café	Lavras, MG
<i>Fusarium stilboides</i>	238	haste, endofítico	Lavras, MG

TABELA 3 Principais características utilizadas na identificação de espécies de *Fusarium*. Lavras, MG, 2003

Espécies	Meio de cultura SNA			Meio de cultura OA		
	Microconídios		Fiálides	Macroconídios	Pigmentação	Crescimento
	+/-	Falsas cabeças /cadeias		Origem		
<i>F. oxysporum</i>	+	Falsas cabeças	Monofiálides curtas	Esporodóquios	Roxa	Rápido
<i>F. solani</i>	+	Falsas cabeças	Monofiálides longas	Esporodóquios	Creme	Moderado
<i>F. equiseti</i>	-	-	Monofiálides	Esporodóquios Curvatura acentuada Célula apical alongada	Bege	Rápido
<i>F. stilboides</i>	+	até 3 septos	Monofiálides	Esporodóquios 5-7 septos	Vermelho- carmesina	Moderado
<i>F. dimerum</i>	-	-	Monofiálides	Esporodóquios 1-2 septos	Laranja	Lento tipo levedura
<i>F. semitectum</i>	-	-	Polifiálides e monofiálides	Micélio aéreo	Marrom	Rápido
<i>F. striatum</i>	+	Falsas cabeças	Monofiálides longas	Esporodóquios	Creme	Moderado

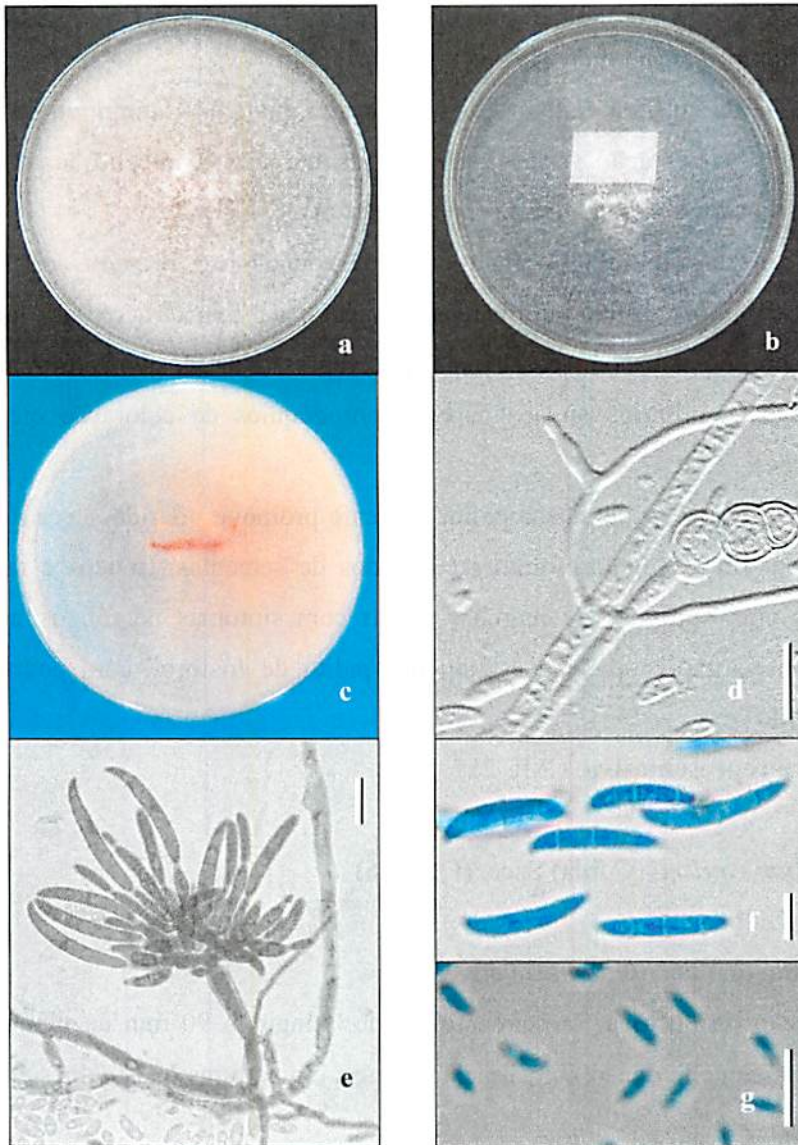


FIGURA 3 *Fusarium oxysporum*. (a) crescimento em OA; (b) crescimento em SNA; (c) verso OA; (d) fiálide curta, clamidóspero e microconídios; (e) esporodóquio; (f) macroconídios; (g) microconídios. d, g; barra = 20 $\mu$ m; e, f; barra = 10 $\mu$ m

***Fusarium solani* (Mart.) Sacc. (Figura 4)**

**Seção:** Martiella

**Teleomorfo:** *Haematonectria* sp.

**Descrição da cultura:** colônias de crescimento moderado, atingindo 80 mm em sete dias, pigmentação variável, freqüentemente creme, micélio aéreo branco, alguns isolados apresentam esporodóquios azuis.

**Descrição da morfologia:** microconídios abundantes formados em fiálides longas, conidióforos não ramificados no micélio aéreo; macroconídios formados em esporodóquios, com, geralmente, três septos; clamidósporos formados em abundância, solitários ou aos pares; esporodóquios de coloração creme são freqüentes.

**Observações :** espécie cosmopolita, em café promove podridão seca de raízes “dry root rot”. Isolados foram recuperados de sementes, troncos e raízes de plantas com sintomas de murcha; mudas com sintomas necróticos no caule (canela seca); plântulas no estágio de “palito de fósforo” com podridão no hipocótilo.

**Cultura representativa:** CML 217

***Fusarium equiseti* (Corda) Sacc. (Figura 5)**

**Seção:** Gibbosum

**Teleomorfo:** *Gibberella intricans* Wollenw.

**Descrição da cultura:** crescimento rápido, atingindo 90 mm de diâmetro em sete dias, micélio denso, inicialmente branco, em culturas mais velhas apresenta cor bege.

**Descrição da morfologia:** microconídios ausentes; macroconídios em esporodóquios formados em monofiálides, usualmente 5 a 7 septos (32) 38-50 x 3 µm; possuem acentuada curvatura, parede fina; célula apical alongada e curvada de forma acentuada; célula pé acentuada; clamidósporos formados em

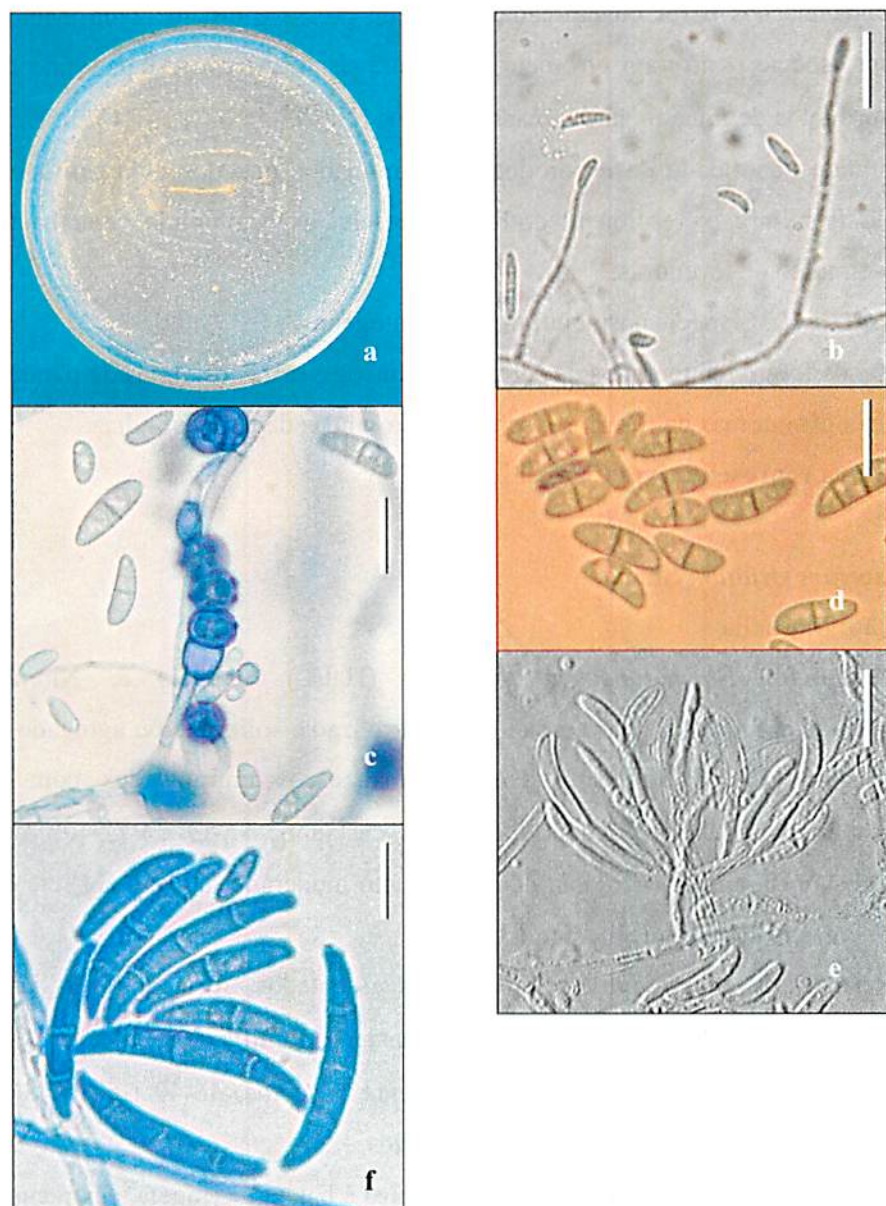


FIGURA 4 *Fusarium solani*. (a) crescimento em OA; (b) fiálides longas; (c) clamidósporos e microconídios; (d) microconídios; (e) esporodóquio; (f) macroconídios. b, e: barra = 20 $\mu$ m; c, d, f: barra = 10  $\mu$ m

abundância aos pares ou em cadeias, parede grossa e ornamentada. Mutantes desta espécie ocorreram em meio de cultura na forma pionnotal, sendo estes desprovidos de micélio aéreo, macroconídios (30) 33-46 (48) x 3-4 µm. Devido à grande quantidade de esporodóquios alaranjados que desenvolvem sobre o meio de cultura, o crescimento do fungo apresenta aspecto úmido, semelhante ao crescimento de leveduras.

**Observações:** espécie cosmopolita, fraco patógeno

Isolados foram recuperados de sementes, troncos e raízes oriundas de plantas de café com sintomas de fusariose; sementes providas de plantas sadias.

**Cultura representativa:** CML 232, CML 233

***Fusarium striatum* Sherb.**

**Seção:** Martiella

**Teleomorfo:** *Haematonectria ipomoeae* (Halst.) Samuels & Nirenberg

Peritécios globosos, de cor vermelha a amarronzada, solitários ou agregados, de fácil remoção do substrato, sem estroma; ascos unitunicados com oito ascósporos bicelulares, elipsóides, estriados, castanhos, 15-17 x 5-7,5 µm.

**Descrição da cultura:** colônia de crescimento moderado, 50 mm em sete dias, pigmentação creme; micélio aéreo branco;

**Descrição da morfologia:** microconídios asseptados, formados em fiálides longas 6-11 x 2-3 µm, conidióforos bastante ramificados; macroconídios formados em esporodóquios com geralmente 5 septos, 46-49 (-52) x 5 µm; clamidósporos presentes, geralmente solitários.

**Observações:** espécie cosmopolita, patogênica à batata, beringela e maracujá.

Isolados foram recuperados de sementes, troncos e raízes de cafeeiro com sintomas de murcha e de plântulas no estágio de “palito de fósforo” com podridão no hipocótilo. Foram obtidos também, isolados de hastes de



FIGURA 5 *Fusarium equiseti* (a) crescimento em OA, cultura pionotal; (b) verso OA; (c) macroconídios (d) células conidiogênicas e macroconídios. barra = 10µm.

maracujazeiro com sintomas necróticos e isolados endofíticos de folhas de cafeeiro. A fase teleomórfica forma-se com facilidade tanto em meio de cultura como em substrato natural.

**Culturas representativas:** CML 213, CML 214, CML 234, CML 227, CML 228.

***Fusarium semitectum* Berk. & Rav. (Figura 6)**

**Seção:** Arthrosporiella

**Teleomorfo:** desconhecido.

**Descrição da cultura:** cultura de crescimento rápido, 90 mm em sete dias, com denso micélio aéreo marrom; polifálides presentes no micélio aéreo.

**Descrição da morfologia:** microconídios ausentes; macroconídios podem ser de dois tipos: os formados no micélio aéreo são fusiformes, quase retos, a maioria com 5 septos, (20) 27-39 (40) x 3-4  $\mu\text{m}$ ; os macroconídios em forma de foice são produzidos em esporodóquios, também com cinco septos; (22) 26-40 (-45) x 3-4  $\mu\text{m}$ .

**Observações:** espécie cosmopolita; ocorre em sementes de café; freqüentemente recuperado de parte aérea de plantas em áreas tropicais e subtropicais, é um fraco patógeno, causando podridão de bananas e outras frutas no armazenamento; tem sido reportado como toxigênico.

Isolados foram recuperados de sementes, caules e raízes de plantas com sintomas de murcha; plântulas no estágio de “palito de fósforo” com podridão no hipocótilo. Também foi recuperado em sementes de café “Robusta” (Braccini et al., 1999)

**Cultura representativa:** CML 235, CML 231



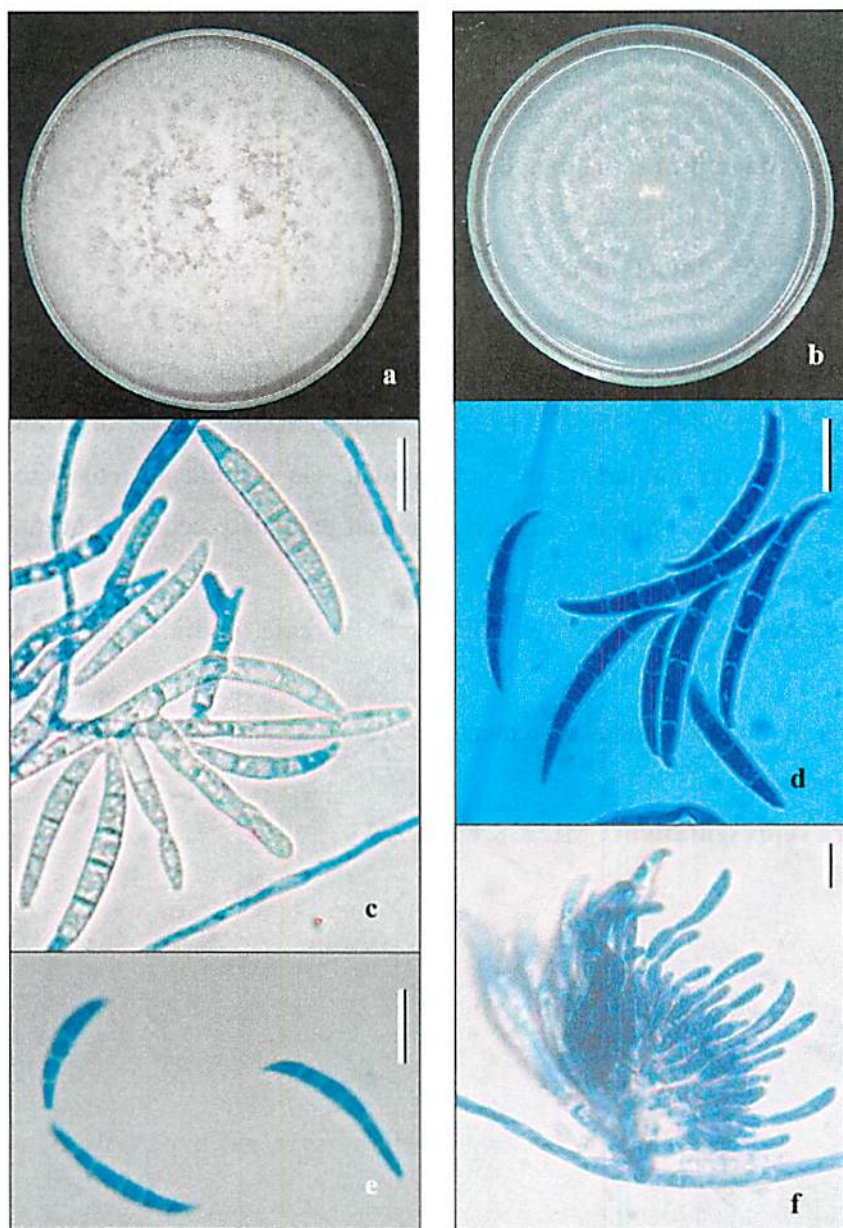


FIGURA 6 *Fusarium semitectum*. (a) cultura em OA; (b) cultura em SNA; (c) polifiálide e macroconídios; (d) macroconídios esporodóquiais; (e) macroconídios do micélio aéreo; (f) esporodóquio. c, d, e, f: barra = 10µm

***Fusarium stilboides* Wollenw. (Figura 7)**

**Seção:** Lateritium

**Teleomorfo:** *Gibberella stilboides* Gordon ex. C. Booth

**Descrição da cultura:** cultura de crescimento lento, 40 mm em dez dias, pigmentação vermelho-carmesina a amarelo-marrom.

**Descrição da morfologia:** microconídios e clamidósporos ausentes; conidióforos no micélio aéreo proliferando, formando feixes característicos; conídios formados no micélio aéreo com, normalmente, três septos, relativamente grossos, (15) 17-31 (32) x 3-4  $\mu\text{m}$ ; macroconídios formados em esporodóquios de cor laranja ou tons rosados, são geralmente retos na parte central, com 5 (-7) septos, com a célula apical pontuda e célula pé acentuada, (57) 62-68 (-71) x 3-4  $\mu\text{m}$ .

**Observações:** “bark disease” e “collar rot” em café, podridão de frutos em Citrus.

Isolados foram recuperados de sementes de café e de hastes e folhas de cafeeiro assintomáticos.

**Cultura representativa:** CML 238, CML 237

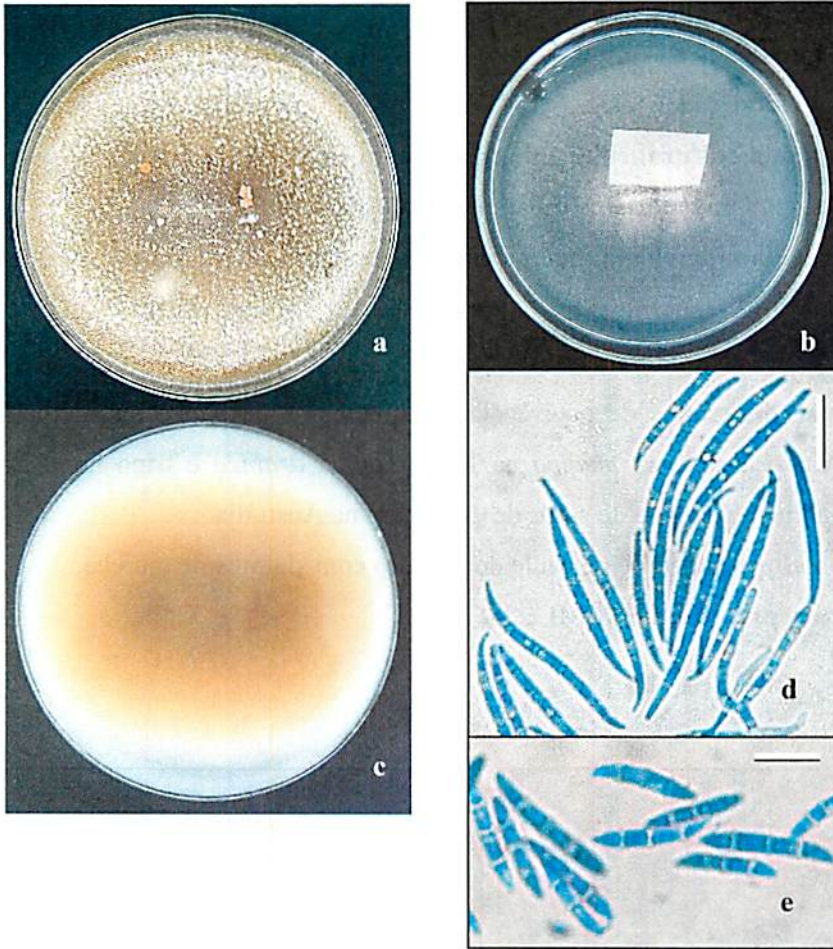


FIGURA 7 *Fusarium stilboides*. (a) crescimento em OA; (b) crescimento em SNA; (c) verso da cultura em OA; (d) macroconídios esporodóquiais e célula conidiogênica; (e) conídios do micélio aéreo. d, barra = 20  $\mu\text{m}$ ; e, barra = 10  $\mu\text{m}$ .

***Fusarium dimerum*** Penzig (Figura 8)

**Seção:** Eupionnotes

**Teleomorfo:** desconhecido

**Descrição da cultura:** cultura de crescimento lento, formando uma colônia tipo levedura, com micélio aéreo escasso, colônia alaranjada;

**Descrição da morfologia:** microconídios ausentes; macroconídios formados em abundância na superfície da cultura, com 1-2 septos, 12-22 x 2,5-3  $\mu\text{m}$  ; clamidósporos não foram observados.

**Observações:** relatos de ocorrência em tubérculos de batata na Alemanha e USA; frutos de *Citrus medica* na Itália; *Coffea arabica* e trigo no Brasil; é freqüentemente isolado de solos de gramíneas na Austrália

O isolado foi recuperado de caule de cafeeiro com sintoma de murcha.

**Cultura representativa:** CML 224

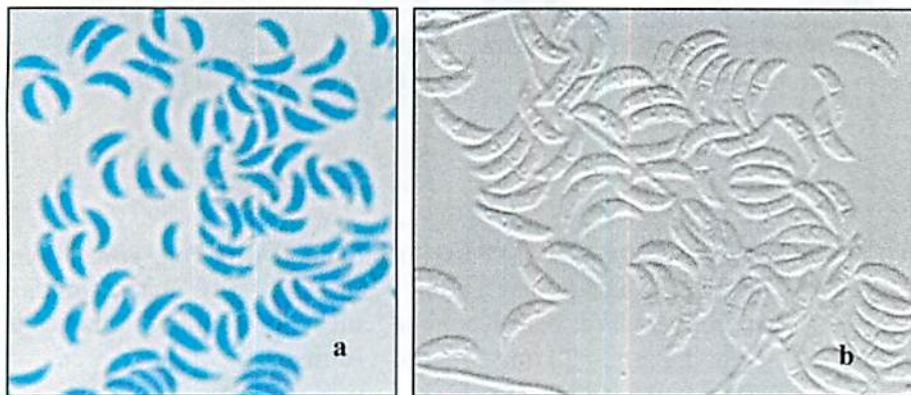



FIGURA 8 *Fusarium dimerum* (a, b) macroconídios com 1 septo

## 6 DISCUSSÃO

Dentre as espécies isoladas, *Fusarium dimerum* e *Haematonectria ipomoeae* foram, pela primeira vez, mencionadas nesta cultura. *Fusarium dimerum* é um fungo pouco conhecido e encontra-se distribuído em todos os continentes. A espécie é considerada um fungo de solo, mas ocorre também em diferentes tecidos vegetais podres e em perecimento. Há relatos de sua ocorrência em tubérculos de batata na Alemanha e EUA, frutos de *Citrus medica* na Itália, trigo no Brasil e é freqüentemente isolado de solos de gramíneas na Austrália. Até o presente, não há relatos sobre a patogenicidade em plantas cultivadas.

*Fusarium semitectum* foi isolado com alta freqüência, tanto como endofítico da parte aérea como saprófita de sementes (Tabela 4 e 5). A espécie é extremamente comum em frutos de café tipo cereja (resultados não publicados). Foi registrado também em grãos e sementes de café (Opperman, 1993; Cardoso 1977; Cardoso et al., 1977). É um fungo inespecífico que ocorre na fase pós-colheita de frutas, atuando como parasita fraco ou de fermento. *Fusarium concolor*, relatado como um dos fungos mais comuns em frutos de café, deve ser idêntico a *Fusarium semitectum*.

Outra espécie inespecífica é *Fusarium equiseti*, encontrada geralmente associada a partes de cafeeiros doentes. Este fungo é conhecido como invasor secundário isolado com freqüência de raízes, hastes, folhas, frutos, sementes, tubérculos e de outras partes de diferentes plantas cultivadas. Em cafeeiro e frutos e grãos de café também é registrado, podendo ser encontrado com alta freqüência (Cardoso, 1977; 1978; Cardoso et al., 1977; Pfenning & Silva, 1999; Pfenning & Martins, 2000).



*Fusarium stilboides* foi recuperado como endofítico de hastes de cafeeiro. Na literatura consultada não foi encontrado nenhum outro relato deste fungo como endofítico em cafeeiro. Alguns autores consideram *F. stilboides* sinônimo de *Fusarium lateritium*, conceito considerado incorreto por Gerlach & Nirenberg (1982). *Fusarium stilboides* é descrito como agente etiológico da “Fusarium bark disease” e podridão de frutos em cafeeiro e citros. Em cafeeiros, “Fusarium bark disease” manifesta-se de três maneiras distintas: “scaly bark”, “collar rot” e “storey’s bark disease” (Booth & Waterston, 1964 e Mbogo, 1999). Geralmente, *Fusarium stilboides* fica restrito a frutos e grãos de café. Quando não cultivados corretamente ou em condições inadequadas, *F. stilboides* pode ser confundido com *Fusarium semitectum*.

*Fusarium solani* é uma morfo-espécie, um complexo de populações com características fisiológicas e biológicas distintas. Portanto, a comparação de dados da literatura deve ser feita com cautela.

*Fusarium oxysporum* foi recuperado não apenas de raízes e caules de cafeeiro com sintomas de murcha, sementes, hipocótilo de plântulas com podridão, mas também de haste de cafeeiro assintomático (Tabela 4, 5 e 6). Como descrito na literatura, *Fusarium oxysporum* é tida como patogênica ao cafeeiro, promovendo murcha vascular (Wellman, 1954; Cardoso, 1977; Cardoso et al., 1977; Cardoso, 1986; Négron & Acosta, 1989; Bertrand et al. 200; 2002) e podridão de raízes (Garcia, 1945; Nataraj, 1973; Muthappa, 1977; Kannan, 1986; Govindarajan, 1988; Kannan, 1995).

O fato de *Fusarium oxysporum* ter sido encontrado como um endofítico em plantas sem sintomas, pode ser um indício de que em condições de estresse, seja ele hídrico, alta luminosidade, temperatura elevada, deficiência nutricional e/ou presença de resíduos de agroquímicos, o fungo passe de endofítico a patógeno, uma vez que fatores de estresse aumentam a suscetibilidade das plantas ao ataque de patógenos. Fatores de estresse tiveram ação comprovada em

aumentar a suscetibilidade de mudas de cafeeiro frente ao ataque de espécies de *Fusarium* e *Phoma costarricensis* (Medina & Rojas, 2001).

Contudo, observa-se que todas as espécies de *Fusarium*, exceto *Fusarium dimerum*, recuperadas de caule e raízes de plantas sintomáticas e de hastes de plântulas com podridão no hipocótilo, foram também recuperadas de sementes providas de plantas doentes e também de plantas sadias (Tabela 4 e 5). Portanto, sementes podem ser fontes de inóculo e, com isso, um eficiente agente de dispersão de *Fusarium*.

Observações semelhantes foram feitas por Cardoso 1977; Cardoso et al., 1977) e por vários outros autores que estudaram o fenômeno em outras regiões produtoras como Nigéria, Índia, sul da África e Nyasaland (Siddiqi, 1964; Venkatasubbaiah et. al., 1984; Muthappa, 1984; Annapoorna & Loksha, 1989; Fawole, 1990; Opperman, 1993). Desse modo, medidas preventivas, como uso de sementes de boa qualidade e tratamento químico destas, devem ser administradas com o intuito de diminuir a fonte inicial de inóculo. Aliado a estas medidas, deve-se utilizar substrato de boa qualidade, preferencialmente após tratamento químico ou físico. Com essa medidas, as chances de ocorrer podridão de sementes e de hipocótilos em viveiro e, possivelmente, a ocorrência de murcha no campo, serão menores.

TABELA 4 Espécies isoladas de diferentes partes de cafeeiros assintomáticos, Lavras, MG, 2003

Espécies	Partes da planta		
	Sementes	Folhas	Hastes
<i>F. stilboides</i>	++	--	++
<i>F. semitectum</i>	++	--	--
<i>F. oxysporum</i>	--	--	++
<i>F. striatum</i>	--	++	--

\* (++) presença; (--) ausência

TABELA 5 Espécies de *Fusarium* recuperadas de sementes, providas de plantas com sintomas de murcha e de um lote de sementes da UFLA que originaram plântulas com podridão no hipocótilo. Lavras, MG, 2003

Espécies	Procedência das sementes	
	Plantas com murcha	Sementes UFLA
<i>F. equiseti</i>	++	++
<i>F. oxysporum</i>	++	++
<i>F. semitectum</i>	++	++
<i>F. solani</i>	++	++
<i>F. stilboides</i>	++	--
<i>F. striatum</i>	++	++

\* (++) presença; (--) ausência



TABELA 6 Espécies de *Fusarium* recuperadas de diversas partes de plantas de café com sintomas de fusariose e suas respectivas localidades de coleta. Lavras, MG, 2003

Espécies	Localidades								
	Lavras		Guapé		Machado	Muzambinho	Bambuí	Capelinha	UFLA
	raiz	tronco	raiz	tronco	tronco	tronco	tronco	raiz	hipocótilo
<i>F. dimerum</i>	--	++	--	--	--	--	--	--	--
<i>F. equiseti</i>	--	++	--	--	--	--	++	--	++
<i>F. oxysporum</i>	++	++	--	--	++	--	--	++	++
<i>F. semitectum</i>	--	++	--	++	++	--	++	--	++
<i>F. solani</i>	++	++	++	++	++	++	--	++	++
<i>F. striatum</i>	++	++	--	++	--	++	++	--	++

\* (++) presença; (--) ausência

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANNAPORNNA, M. P.; LOKESHA, S. Studies on the seed mycoflora of coffee with special reference to stinkers (foxy beans). **Indian Coffee**, v. 53, n.10, p.3-9, 1989.

BERTRAND, B.; NUNEZ, C.; SARAH, J. L. Disease complex in coffee involving *Meloidogyne arabicida* and *Fusarium oxysporum*. **Plant Pathology**, v. 49, n 3, p.383-388, 2000.

BERTRAND, B. et al. Resistance of cultivated coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*) trees to corky-root caused by *Meloidogyne arabicida* and *Fusarium oxysporum*, under controlled and field conditions. **Crop Protection**. v.21, n.9, p. 713-719, 2002.

BOOTH, C. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute (C.M.I.), Kew, Surrey, England 1971. 237p.

BOOTH, C.; WATERSTON, J. M. *Gibberella xylarioides*. C.M.I. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, n.24, Commonwealth Mycological Institute Wallingford, England, 1964.

BRACCINI, A. L. et al. Incidence of microorganisms in Robusta coffee seeds during the storage. **Bragantia**, Campinas, v.58, n.2, p.305-315, 1999.

BURGESS, L. W. et al. Laboratory Manual for *Fusarium* Research. 3ed. Royal Botanical Garden, Sydney, 133 p. 1994.

CARDOSO, R. M. L. Podridão do caule em mudas de café por *Fusarium* spp In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIEIRA, 5., 1977, Guarapari, ES. Resumos... Rio de Janeiro: IBC/CERCA, 1977. p 30.

CARDOSO, R.M.L. Uma traqueomicose do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) no Estado do Paraná (Brasil), causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *coffeeae* (Garcia) Wellman. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIEIRA, 9., 1981, São Lourenço, MG. Resumos... Rio de Janeiro: IBC/GERCA, 1981. p.125.

- CARDOSO, R.M.L., Ocorrência da murcha vascular do cafeeiro (*Coffea arabica*) no Estado do Paraná – Brasil, induzida por *Fusarium oxysporum* f. sp. *coffea*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 11, n. 4, p. 753-760, 1986.
- CARDOSO, R.M.L.; MENEZES, J.R.; ROSSETO, E. A. Fungos associados a sementes de café no Estado do Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 5., 1977, Guarapari, ES. **Resumos...** Rio de Janeiro: IBC/CERCA, 1977. p 28-29.
- CHALFOUN, S. M.; SOUZA, J. C. ; CARVALHO, V. D. Relação entre a incidência de broca *Hypothenemos hampei* (Ferrari, 1867) e microorganismos em grãos de café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 11., 1984, Londrina, PR. **Resumos...** Rio de Janeiro: IBC, 1984. p. 149-150.
- FAWOLE, E.A. Isolation and pathogenicity of seed-borne fungi of coffee in Nigeria. **Fitopatologia Brasileira**, n.15, v.4. p.333-336, 1990.
- GARCÍA, L.A.A. Studies on coffee root disease in Puerto Rico I. A coffee *Fusarium* wilt. **The Journal of Agriculture of The University of Puerto Rico**, v.29, n.1, p. 1-29, Jan. 1945.
- GERLACH, W.; NIRENBERG, H. The genus *Fusarium*: a pictorial atlas. Biologische Bundesanstalt Für Land-und Forstwirtschaft. Berlin. Institut für Mikrobiologie Berlin-Dahlem. Parey, Berlin, 406 p., 1982.
- GOVINDARAJAN, T.S. A review on the incidence of root disease on coffee and their management. **Journal of Coffee Research**, v.1, n.18, p.16-28, 1988.
- KANNAN, N. Root disease of coffee. **Indian Coffee**, v.12, n. 50, p.21-24, 1986.
- KANNAN, N. Technical report on diseases affecting coffee in India: a review. **Indian Coffee**, v.8, n.59, p.11-17, 1995.
- KRUG, H. P. Cafés duros I. **Revista do Instituto de Café do Estado de São Paulo**, Campinas, v.15, n.159, 1940.
- KRUG, H. P. Conceção moderna sobre a origem dos cafés duros. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v.20, n.12, p.417-426, 1945.

- MATIELLO, J. B. ; BARROS, U. V. Ocorrência de Fusariose em Cafeeiros no Espírito Santo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 19., 1993, Três Pontas, MG. Resumos... Rio de Janeiro: MAARA PROCAFÉ, 1993. p 27.
- MATIELLO, J. B.; ALMEIDA, S. R. ; MIGUEL, A. E. Ocorrência de Fusariose em Cafeeiro no Sul de Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 18., 1992, Araxá, MG. Resumos... Rio de Janeiro: MAARA PROCAFÉ, 1992. p 27-30.
- MBOGO, S.N. Better Coffee Farming: coffee diseases and their control. **Kenia Coffee**, v.755, n.64, p.2967-2973, 1999.
- MEDINA, H. F. L. ; ROJAS, E. B. Efecto de factores de estrés tecnológico en la predisposición del café ao ataque de patógenos fungosos. **Manejo Integrado de Plagas**, n. 61, 2001.
- MUTHAPPA, B.N. *Fusarium* root diseases of coffee. **Journal of Coffee Research**, v.7, n.3, p.79-80, 1977.
- MUTHAPPA, B.N. Seed-Borne fungi of coffee. **Journal of Coffee Research**, v.3, n.14, p.104-107, 1984.
- NATARAJ, T. Preliminary studies on pathogenicity of *Fusarium oxysporum* on arabica coffee plants as a possible cause of root rot. **Journal of Coffee Research**, v.3, n.3, p.58-60, 1973.
- NEGRON, J. A.; ACOSTA, N. The *Fusarium oxysporum* f. sp. *coffae* - *Meloidogyne incognita* complex in 'Bourbon' coffee. **Nematropica**. v.19, n.2, p.161-168, 1989.
- NELSON, P. E., TOUSSOUN, T. A. ; MARASAS, W. F. O. *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. Pennsylvania: The Pennsylvania State University; London: University Park and London, 1983. 193 p.
- NIRENBERG, H. I. Recent advances in the taxonomy of *Fusarium*. **Studies in Mycology (Baarn)**, n.32, p. 91-101, 1990.
- OPPERMAN, L. Soil and root inhabiting fungi occurring in some southern African coffee States, and their effect on coffee seedlings in the greenhouse. **Phytophylactica**, v.25, n.4,p.289-291, 1993.

PFENNING, L. H. ; MARTINS, M. F. Espécies de *Fusarium* associadas ao cafeeiro na região sul de Minas Gerais. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 23., 2000, Campinas, SP. **Resumos...** Campinas, SP: 2000. p. 233.

PFENNING, L. H.; SILVA, C. F. Isolamento, caracterização e identificação de espécies de *Fusarium* associados ao cafeeiro na região Sul de Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 25., 1999, Franca, SP. 1999. **Anais...** Franca, SP: 1999. p.56-58.

ROSSMAN, A. Y. et al. Genera of Bionectriaceae, Hypocreaceae and Nectriaceae (Hypocreales, Ascomycetes). **Studies in Mycology**, n.42, 1999, 248p.

SHERBAKOFF, C. D. Fusaria of potatoes. Cornell University Agricultural Experimental Station, Memoir no. 6, Ithaca, New York, EUA, p.87-270, 1915.

SIDDIQI, M. A. Fungos flora of *Coffea arabica* in Nyasaland. **Transaction British Mycological Society**, v.2, n.47, p.281-284, 1964.

VENKATASUBBIAH, P.; SHEKARA SHETTY, H.; SAFEEULLA, K.M. Seed-borne nature of *Fusarium solani* in *Coffea arabica* and its role in seedling rot. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v.37, n.1, p.158-160, 1984.

VENTURA, J. A. Taxonomia de *Fusarium* e seus segregados. I - História, meios e procedimentos de cultivo. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.7, p.271-298, 1999.

VENTURA, J. A. Taxonomia de *Fusarium* e seus segregados. II Chaves para identificação. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.8, p.303-338, 2000.

VILELA, J. et al. Recuperação de cafeeiros atacados por fusariose, no Sul de Minas Gerais: resultados preliminares. In: CONGRESSO BRASILEIRO SOBRE PESQUISAS CAFEIRAS, 19., 1993, Três Pontas, MG. **Resumos...** Rio de Janeiro: MAARA PROCAFÉ, 1993. p.105-106.

WELLMAN, F. L. The *Fusarium* phase of the root-disease complex in coffee. **Phytopathology** v.44, n.9, p.509, 1954.

## **CAPÍTULO 3**

**Testes de patogenicidade de *Fusarium* sp. em mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**

## 1 RESUMO

ALMEIDA, Anderson Resende. Testes de patogenicidade de *Fusarium* sp. em mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) In: \_\_\_\_\_. Espécies de *Fusarium* associadas ao cafeeiro (*Coffea arabica* L). 2003. p. 52-64. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.\*

No Brasil e no mundo já foram registradas mais de 20 espécies de *Fusarium* associadas à parte aérea do cafeeiro, ao sistema radicular, aos frutos, grãos e sementes. Algumas dessas espécies são consideradas patogênicas. Entretanto, não há evidências claras de quais espécies, e em que condições podem causar danos à planta e/ou depreciar os grãos. Portanto, o objetivo deste trabalho foi testar a patogenicidade de algumas espécies de *Fusarium* em plântulas de cafeeiro. Foram utilizadas mudas de cafeeiro das cultivares Acaia Cerrado e Catuaí, inoculadas por imersão de raízes em suspensão de conídios, ferimento no colo, infestação do substrato e injeção de suspensão de conídios no hipocótilo com seringa hipodérmica. Entretanto, não foi observado nenhum sintoma de fusariose seis meses após a inoculação das mudas com suspensão de conídios, aplicada com auxílio de seringa e quirera de milho infestada. Da mesma forma, nos experimentos de inoculação por imersão das raízes em suspensão de conídios e ferimentos na base do hipocótilo, não foi possível reproduzir sintomas. Porém, estes experimentos foram avaliados aos 120 e 60 dias, respectivamente, após a inoculação. Provavelmente, prazos maiores são necessários para avaliar a patogenicidade e reproduzir sintomas.

---

\* Comitê Orientador: Ludwig Heinrich Pfenning - UFLA (orientador), Mário Lúcio Vilela de Resende - UFLA (co-orientador)

## 2 ABSTRACT

ALMEIDA. Anderson Resende. Patogenicity testes of some species of *Fusarium* in coffee plants. In: \_\_\_\_\_. **Species of *Fusarium* associated to coffee plants (*Coffea arabica* L.).** 2003. p.52-64. Dissertation (Master Program in Phytopathology)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

More than 20 species of *Fusarium* were reported in Brazil and in the world, associated to the aerial part of coffee trees, the root system, fruits, grains and seeds. Some of the species are considered pathogens. However, there are no clear evidences, what species and in which conditions may cause damage to the production or the quality of the product. Therefore, the objective of this work was to test pathogenicity of some *Fusarium* species in seedlings of cultivars Acaia Cerrado and Catuaí. Inoculation was made by immersion of roots in a suspension of conidia, wounded hypocotyls in substrate infested with the pathogen and injection of a suspension of conidia in the hypocotyls with a hypodermic syringe. No symptoms of fusariosis were observed six months after the inoculations. However, experiments were evaluated after 120 and 60 days, respectively, after the inoculation. Probably, a longer time course is necessary to evaluate pathogenicity and to reproduce disease symptoms.

---

\*Guidance Committee: Ludwig Heinrich Pfenning - UFLA (adviser), Mário Lúcio Vilela de Resende - UFLA (co-adviser)



### 3 INTRODUÇÃO

Espécies de *Fusarium* são agentes etiológicos de doenças de várias culturas de interesse econômico, como banana, algodão, tomate e outras Agrios (1997) . A sintomatologia associada à fusariose inclui desde murcha vascular até podridão do sistema radicular Cardoso, (1977; 1981; 1986), Zambolin, (1999). Esses fungos podem ocorrer também na forma de endofíticos, sem causar alterações visíveis na planta hospedeira. A fusariose é uma das doenças importantes do cafeeiro, entretanto, pouco estudada. Relatos de sua ocorrência em mudas, plântulas e sementes são freqüentes, embora a etiologia ainda não tenha sido esclarecida.

Os sintomas associados à presença de *Fusarium* no cafeeiro são apodrecimento do hipocótilo das mudas, amarelecimento e murcha de plantas no campo. Esta associação, até o momento, foi pouco estudada no Brasil, embora em outros países esta moléstia seja considerada uma das mais importantes na cultura. Os primeiros trabalhos com espécies de *Fusarium* associadas a cafeeiros no Brasil datam do fim da década de 1970, quando Cardoso (1977) observou e identificou várias espécies em plântulas com podridão no hipocótilo. No início dos anos 1980 o mesmo autor caracterizou uma traqueomicose do cafeeiro no estado do Paraná, causada por *Fusarium oxysporum*. No início da década de 1990 ocorreram os primeiros relatos de *Xylella fastidiosa* em cafeeiro, sendo esta associação comprovada por Paradela Filho et al., 1995.

A sintomatologia observada foi o amarelecimento e depauperamento generalizado das plantas; os ramos apresentavam tufo de folhas nas pontas e internódios curtos. Além disso, plantas com sintomas de amarelecimento, murcha e subsequente morte também foram relatadas como sendo resultante da colonização dos vasos do cafeeiro por *Xylella fastidiosa*. Até o momento não foi

observada morte de cafeeiros infectados pela bactéria. Como o sintoma de murcha está relacionado com a presença de patógenos no sistema radicular ou nos vasos da planta, esta sintomatologia foi relacionada com a infecção por *Fusarium*. Há também a semelhança de sintomas da fusariose em cafeeiros na África, onde esta enfermidade é responsável por grandes perdas na cultura. Sendo assim, pesquisadores brasileiros preocupados em tratar do mesmo patógeno, iniciaram os trabalhos com esta doença, até então, não conclusivos. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi testar a patogenicidade de algumas espécies de *Fusarium* em plântulas de cafeeiro.

## 4 TESTES DE PATOGENICIDADE

### 4.1 Produção de mudas

Mudas de cafeeiro, cultivares Acaia Cerrado e Catuaí, foram produzidas a partir de sementes semeadas em caixas plásticas contendo substrato comercial Plantmax. As mudas foram mantidas em câmara de crescimento vegetal, sob temperatura de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ , até o estágio de “orelha-de-onça”. Nesta fase, mudas foram transferidas para bandejas de isopor e crescidas em casa de vegetação sob irrigação por aspersão.

### 4.2 Produção de inóculo

Dentre os fungos depositados na CML, para o estudo de patogenicidade foram selecionados *Haematonectria ipomoeae* CML 213, *Fusarium equiseti* CML 215, *Fusarium oxysporum* CML 216, *Fusarium solani* CML 217, *Fusarium oxysporum* CML 218, *Fusarium oxysporum* CML 219, *Fusarium solani* CML 220, *Fusarium semitectum* CML 221 e *Fusarium oxysporum* CML 222.

Os fungos foram cultivados em placa de Petri contendo meio de aveia (OA) para a produção de inóculo, tanto por suspensão quanto por granulado. As placas foram incubadas em câmara de crescimento (BOD) a  $23^\circ\text{C}$ , com fotoperíodo de 12 horas sob luz negra e 12 horas sob escuro. Após 10 dias, adicionou-se água sobre a cultura fúngica e, com auxílio de uma espátula foi realizada a raspagem dos conídios e micélio, sendo, em seguida, submetidos a filtração em dupla camada de gaze. A concentração de inóculo na suspensão foi ajustada em câmara de Neubauer para  $1,0 \times 10^6$  conídios/mL.

Discos de 8 mm de diâmetro foram retirados das bordas das colônias fúngicas em meio OA e transferidos para frascos de vidro de 500 mL contendo

quirera de milho e areia (1:1 v/v). Em seguida, os fracos foram mantidos em câmara de crescimento como descrito acima, durante 15 dias, para a colonização do substrato pelos fungos. O inóculo produzido desta forma foi utilizado para inoculação das mudas.

### **4.3 Experimento 1**

Inoculação de mudas de cafeeiro cultivar Acaiá Cerrado, estádio de “orelha-de-onça”, com os isolados CML 213, CML 215, CML219 e CML 222

#### **4.3.1 Delineamento experimental**

Este ensaio foi conduzido em delineamento experimental blocos casualizados (DBC) e análise de variância avaliada em esquema fatorial 4 x 2 + 1, sendo quatro isolados fúngicos, dois métodos de inoculação (punção no caule com seringa e infestação do substrato com quirera de milho) e um tratamento adicional sem fungo (testemunha). Empregaram-se quatro repetições por tratamento e dez plantas por parcela. As avaliações foram realizadas periodicamente, atentando-se para sintomas de murcha, necrose, escurecimento dos tecidos, podridão de raízes e queda de folhas. Este ensaio teve início dia 21 de junho de 2002.

#### **4.3.2 Métodos de inoculação**

As inoculações foram conduzidas ou com auxílio de uma seringa ou por quirera de milho infestado com os respectivos isolados. No primeiro método, mudas de cafeeiro cultivar Acaiá Cerrado foram inoculadas na região da haste, próximo da linha do solo, com uma suspensão de *Fusarium* concentrada a  $1,0 \times 10^6$  conídios/mL. Utilizando-se uma seringa, uma gota de suspensão foi injetada em cada furo, sendo realizados quatro furos/haste, dois de lados opostos. A gota

que formou no eixo da haste e a agulha desapareceram dentro da planta, evidenciando a inoculação. No controle foi aplicada somente água.

No segundo método, 5g de quirera de milho infestada com as respectivas espécies de *Fusarium* foram aplicados ao redor do hipocótilo das plântulas e coberto por uma fina camada de substrato.

#### **4.4 Experimento 2**

Inoculação de mudas de cafeeiro cultivar Acaia Cerrado, estágio de “orelha-de-onça”, com os isolados CML 216, CML 217 e CML218, por imersão das raízes em suspensão de conídios.

##### **4.4.1 Delineamento experimental**

Este ensaio foi conduzido em delineamento experimental blocos casualizados (DBC), sendo três isolados fúngicos e uma testemunha sem fungo. O método de inoculação empregado foi imersão das raízes em suspensão de conídios. Empregaram-se quatro repetições por tratamento e dez mudas de cafeeiro no estágio de orelha de onça por parcela. As avaliações foram realizadas periodicamente, atentando-se para sintomas de murcha, necrose, escurecimento dos tecidos, podridão de raízes e queda de folhas. As inoculações foram realizadas dia 24 de setembro de 2002.

##### **4.4.2 Método de inoculação**

Raízes de mudas de cafeeiro cultivar Acaia Cerrado foram imersas em suspensão de conídios na concentração  $1,0 \times 10^6$  conídios/mL, durante 10 minutos, sendo as testemunhas imersas em água por igual período de tempo. Ferimentos foram realizados cortando-se 20 mm das raízes a partir do seu ápice. Em seguida, as mudas foram depositadas em badeiras de isopor, contendo substrato Plantmax e alocadas em casa de vegetação.

### **4.5. Experimento 3**

Inoculação de mudas de cafeeiro cultivar Catuaí, com quatro pares de folhas, com os isolados CML 213, CML 220 e CML221, por meio de ferimento no caule com auxílio de uma lixa.

#### **4.5.1 Delineamento experimental**

Este ensaio foi conduzido em delineamento experimental blocos casualizados (DBC), sendo três isolados de *Fusarium* e uma testemunha sem fungo. O método de inoculação constituiu-se de ferimento na região basal do hipocótilo, com auxílio de uma lixa e adição de discos de meio de cultura contendo as respectivas espécies de *Fusarium*. Empregaram-se quatro repetições e dez mudas com três pares de folhas por parcela. As avaliações foram realizadas periodicamente, atentando-se para sintomas de murcha, necrose, escurecimento dos tecidos, podridão de raízes e queda de folhas. As inoculações foram realizadas dia 6 de novembro de 2002.

#### **4.5.2 Método de inoculação**

Mudas de cafeeiro cultivar Catuaí, com quatro pares de folhas sofreram ferimentos na região basal do hipocótilo, com auxílio de uma lixa. Ao redor do hipocótilo ferido foram depositados oito discos de meio de cultura contendo estruturas de propagação do fungo. O ensaio foi alocado em casa de vegetação sob irrigação por aspersão.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Experimento 1

As mudas de cafeeiro da cultivar Acaia Cerrado, inoculadas com os isolados CML 213, CML 215, CML219 e CML 222, foram avaliadas no período de 180 dias. No decorrer deste período não foi observado nenhum sintoma referente a fusariose, como podridão de raízes, amarelecimento e murcha das folhas.

Seis meses após a inoculação das mudas foram observados sintomas de escurecimento do hipocótilo, rachadura longitudinal rodeada por tecido necrosado de cor castanho-claro a castanho-escuro, com determinada depressão do tecido necrosado em relação ao sadio. Do isolamento deste material foram obtidas colônias de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Phoma* sp. No entanto, estes sintomas foram observados tanto nas mudas inoculadas quanto nas testemunhas e em todos os outros experimentos com a cultura locados na casa de vegetação. Cardoso (1986) descreveu estes sintomas como sendo de fusariose. No entanto, estes sintomas parecem ser comuns em mudas de cafeeiro.

A inoculação de suspensão de conídios usando seringa já foi relatada em estudos com outros patógenos vasculares. Resende et al. (1995), utilizaram esta metodologia de inoculação de suspensão de conídios de *Verticillium dahliae* Kleb. com seringa em caule de *Theobroma cacao* L. e observaram resistência entre as diferentes mudas quinze dias após a inoculação. A colonização de *Fusarium* no sistema vascular do cafeeiro pode ser mais lenta ou a técnica de inoculação ineficiente, portanto, decorrendo em falhas nos testes de patogenicidade.

A quantidade de inóculo a ser utilizada também constitui ponto fundamental nos experimentos de patogenicidade. Neste caso, testes de

concentrações devem ser incluídos em futuros testes de patogenicidade em mudas de cafeeiros.

## 5.2 Experimentos 2 e 3

No experimento 2, as avaliações das mudas de cafeeiro cultivar Acaia Cerrado, inoculadas com os isolados CML 216, CML 217 e CML218 por imersão das raízes em suspensão de conídios, foram realizadas até que o ensaio completasse 120 dias. Entretanto, neste intervalo de tempo não foi diagnosticado nenhum sintoma de fusariose.

No experimento 3, as mudas de cafeeiro cultivar Catuaí inoculadas com os isolados CML 213, CML 220 e CML221, por meio de ferimento no caule com auxílio de uma lixa, foram avaliadas no período de 60 dias após a inoculação. No entanto, até a data de avaliação não foram diagnosticados sintomas de fusariose.

Como as mudas inoculadas para os testes de patogenicidade não apresentaram sintomas de fusariose, é possível que o tempo para colonização e expressão dos sintomas tenha sido curto. Cardoso (1986) conseguiu maior evidência de murcha em cafeeiro inoculado com *Fusarium oxysporum* após 14 meses de inoculação. Mudas da cultivar Mundo Novo com 12 meses de idade foram regadas com suspensão de conídios na concentração de  $10^6$  conídios mL<sup>-1</sup> a razão de 100 mL por vaso ou por ferimento no caule com introdução de micélio do fungo (Cardoso 1986). Os sintomas foram evidenciados pela diminuição da altura das plantas, do número de ramos plagiotrópicos, do total de folhas, da área foliar e do peso seco das raízes. Cardoso (1986) conclui que a colonização é iniciada a partir das raízes e do coleto e a progressão do patógeno interna e ascendente, pelos tecidos do xilema. Portanto, avaliações futuras serão realizadas nos experimentos montados e novos ensaios de patogenicidade



deverão ser estabelecidos em plântulas mais velhas, com o sistema vascular já desenvolvido.

Os sintomas descritos como sendo de uma fusariose, à primeira vista, podem ser provocados por uma etiologia complexa, em que diversas espécies de *Fusarium*, *Xylella fastidiosa*, mosca das raízes e/ou cigarras, estejam agindo concomitantemente. Além disso, fatores nutricionais e estresse hídrico propiciariam o agravamento da moléstia.

Os sintomas de podridão de hipocótilo, observados em plântulas no estádio de “palito de fósforo”, assemelham-se aos mencionados por Cardoso (1986), em que os sintomas tiveram início por pequenas manchas verde-escuras que aumentaram em tamanho e tornaram-se castanhas, necróticas e deprimidas. A porção do caule atingida perdeu a consistência dos tecidos, fazendo com que a parte superior desta tombasse e o cotilédone se desprendesse. Estas lesões foram encontradas com mais frequência na região do hipocótilo quando as folhas cotiledonares ainda não tinham sido lançadas. Em seguida, os tecidos apodrecidos secaram e toda parte superior da região afetada caiu, deixando os caules eretos mas sem folhas cotiledonares (Figura 2).

Os sintomas observados em mudas com mais de dois pares de folhas foram o escurecimento externo do hipocótilo, adquirindo coloração marrom. Fendas longitudinais de fundo verde foram frequentemente observadas ao longo do hipocótilo (Figura 2). Isolamentos dos tecidos doentes foram realizados, constatando a presença de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Phoma* sp. Conforme os resultados, não se pode associar os sintomas observados como sendo de fusariose, devido ao fato de várias espécies, não só de *Fusarium*, mas também de outras tidas como patogênicas ao cafeeiro, estarem agindo ao mesmo tempo. Estas características nos levam a inferir que esta moléstia seja de etiologia complexa.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. 4. Ed. San Diego, Califórnia: Academic Press, 1997. 635p.

CARDOSO, R. M. L. Podridão do caule em mudas de café por *Fusarium* spp. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIEIRA, 5., 1977, Guarapari, ES. **Resumos...** Rio de Janeiro: IBC/CERCA, 1977. p 30.

CARDOSO, R.M.L. Uma traqueomicose do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) no Estado do Paraná (Brasil), causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *coffeeae* (Garcia) Wellman. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIEIRAS, 9., 1981, São Lourenço, MG. **Resumos...** Rio de Janeiro: IBC/GERCA, 1981. p.125.

CARDOSO, R.M.L. Ocorrência da murcha vascular do cafeeiro (*Coffea arabica*) no Estado do Paraná – Brasil, induzida por *Fusarium oxysporum* f. sp. *coffeeae*. **Fitopatologia Brasileira**, n.11, v.4, p.753-760, 1986.

PARADELA FILHO et al., Primeira constatação em cafeeiro no Brasil da *Xylella fastidiosa*, causadora da Clorose Variiegada dos Citros. **Laranja**, v.16(2):135-13. 1995.

RESENDE, M.L.V.; FLOOD, J.; COOPER, R.M. Effect of method of inoculation, inoculum density and seedling age at inoculation on the expression for resistance of cocoa (*Theobroma cacao* L.) to *Verticillium dahliae* Kleb. **Plant Pathology**, v. 44, p. 374-383, 1995.

ZAMBOLIM, L. et al. Manejo integrado das doenças do cafeeiro. In: ZAMBOLIM, L. **Encontro sobre produção de café com qualidade**. Viçosa MG: UFV, 1999. p.134-215.



## CAPÍTULO 4

*Haematonectria ipomoeae* (Halst.) Samuels & Nirenberg, anamorfo  
*Fusarium striatum* Sherb.: patógeno de plantas cultivadas ?

## 1 RESUMO

ALMEIDA, Anderson Resende. *Haematonectria ipomoeae* (Halst.) Samuels & Nirenberg, anamorfo *Fusarium striatum* Sherb.: patógeno de plantas cultivadas ? In: \_\_\_\_\_. *Espécies de Fusarium associadas ao cafeeiro (Coffea arabica L.)*. 2003. p. 65-85. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.\*

Em cafeeiros (*Coffea arabica* L.) com sintomas aparentes de murcha, plântulas de cafeeiro no estágio de “palito de fósforo” com podridão no hipocótilo e em sementes de café, foi isolado um fungo formador de peritécio, semelhante a *Nectria*. O fungo também tinha sido recuperado de plantas de maracujá (*Passiflora edulis* Sims) com sintomas de murcha. Testes de patogenicidade foram realizados com plantas de café, maracujá e tubérculos de batata. O fungo foi identificado, com base na morfologia, fertilidade e patogenicidade em plantas, como *Haematonectria ipomoeae* (Halst.) Samuels & Nirenberg, com anamorfo conhecido como *Fusarium striatum* Sherb. Não há registro dessa espécie no Brasil. Contudo, observações em laboratório bem como consultas na literatura evidenciaram que no caso de *Haematonectria ipomoeae* deve se tratar de um fungo muito comum. Os resultados sobre sua patogenicidade em plantas cultivadas no Brasil não foram conclusivos.

---

\*Comitê Orientador: Ludwig Heinrich Pfenning - UFLA (orientador), Mário Lúcio Vilela de Resende - UFLA (co-orientador)

## 2 ABSTRACT

ALMEIDA. Anderson Resende. *Haematonectria ipomoeae* (Halst.) Samuels & Nirenberg, anamorfo *Fusarium striatum* Sherb.: pathogen to cultivated plants? In: \_\_\_\_\_. *Species of Fusarium associated to coffee plants (Coffea arabica L.)*. 2003. p.65-85. Dissertation (Master Program in Phytopathology)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.\*

An ascomycete producing red perithecia similar to *Nectria* was repeatedly isolated from coffee trees (*Coffea arabica* L.) with apparent symptoms of wilt, from seedlings with one pair of leaves showing stem rot and from seeds. This fungus has also been recovered from passionfruit (*Passiflora edulis* Sims) with symptoms of wilt. Pathogenicity tests were accomplished with coffee plants, passionfruit and potato tubers. Based on morphology, fertility and pathogenicity, the fungus was identified as *Haematonectria ipomoeae* (Halst.) Samuels & Nirenberg, with its anamorph known as *Fusarium striatum* Sherb. There is no register of this species for Brazil. However, observations in the laboratory as well as consultations in the literature evidenced that *Haematonectria ipomoeae* may be a very common fungus. The results of pathogenicity tests in cultivated plants in Brazil were not conclusive.

---

\* Guidance Committee: Ludwig Heinrich Pfenning - UFLA (adviser), Mário Lúcio Vilela de Resende - UFLA (co-adviser)

### 3 INTRODUÇÃO

Durante o levantamento de espécies de *Fusarium* associadas a cafeeiros com e sem sintomas de murcha, bem como a sementes, foi possível isolar, com alta frequência, uma espécie homotética com características de *Nectria*, formando, em curto espaço de tempo, peritécios. Existem alguns registros na literatura de espécies de *Nectria* associadas ou patogênicas a maracujá, beringela e pimenta. Comparações com isolamentos obtidos de plantas de maracujá e consultas à literatura evidenciaram que se trata de um fungo muito comum, entretanto, até o momento não registrado e caracterizado para o Brasil. O objetivo desse trabalho foi caracterizar, identificar e estudar a patogenicidade da espécie.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Isolamento de *Haematonectria ipomoeae*

O material vegetal utilizado para o isolamento era composto de troncos de cafeeiros provindos de duas fazendas, uma na região de Lavras, MG e outra em Guapé, MG, e hastes de maracujazeiros oriundos da região do Carmo do Paranaíba, MG. O material foi retirado de plantas que apresentavam sintomas aparentes de murcha. Sementes de café e plântulas no estágio de “palito de fósforo” com podridão no hipocótilo provenientes do viveiro da Universidade Federal de Lavras também foram utilizadas. Para o isolamento do fungo, foram seguidos quatro procedimentos distintos.

#### 4.1.1 Isolamento direto de caules de cafeeiro e hastes de maracujá

Pedaços de caules de cafeeiros e de hastes de maracujazeiro com aproximadamente 20 cm de comprimento, provenientes de plantas com sintomas de murcha, foram lavados superficialmente com água de torneira com auxílio de uma escova e, posteriormente, secos à sombra. Em seguida, o material foi seccionado, obtendo-se fragmentos de aproximadamente 8 x 4 mm, os quais foram depositados em placas de petri contendo meio de cultura SNA e colocadas no laboratório sob condições de ambiente de luz e temperatura.

#### 4.1.2 Isolamento após incubação em câmara úmida

Parte do material referido no item anterior foi armazenado em sacos plásticos de polietileno, contendo esponjas de algodão embebidas em água, com a finalidade de induzir a produção de peritécios. Geralmente, após quinze dias de câmara úmida, iniciava-se a produção dos corpos de frutificação, os quais foram

então transferidos para meio de cultura com auxílio de agulha de vidro e microscópio estereoscópio, visando a obtenção de culturas puras.

#### **4.1.3 Isolamento após desinfestação superficial**

Hipocótilos de plântulas de *Coffea arabica* cultivar Acaia Cerrado no estágio de “palito de fósforo” com podridão foram submetidos a uma desinfestação. O material foi tratado superficialmente com álcool etílico 70% v/v por 1 minuto, hipoclorito de sódio 2% v/v durante 1 minuto e álcool etílico 98 GL por 30 segundos. Após esta desinfestação, fragmentos de 5 x 3 mm foram retirados e depositados em placas de petri contendo meio de cultura SNA, sendo estas colocadas em laboratório sob condições ambiente de temperatura.

#### **4.1.4 Isolamento de sementes de café**

Para a recuperação do fungo de sementes foi utilizado o procedimento descrito anteriormente, submetendo as sementes a uma desinfestação superficial.

### **4.2 Caracterização da espécie**

Culturas puras da espécie foram transferidas para o meio de cultura SNA e OA, e mantidas em câmara de crescimento (BOD) a 21°C e fotoperíodo de 12 horas luz negra e 12 horas no escuro. Após formação dos peritécios, o que ocorreu após cerca de 10 dias, as colônias foram caracterizadas medindo-se os macroconídios, microconídios, peritécios, ascos e ascósporos. Os peritécios também foram submetidos ao teste de KOH 85%. As preparações para observação das estruturas em microscópio foram feitas utilizando-se água com glicerina como líquido de montagem das lâminas.

Culturas monospóricas, tanto de ascósporos como de conídios, foram preparadas para confirmar a homotalia do fungo. Para tanto, uma pequena porção de ascósporos, retirada diretamente do ostíolo de um peritécio, foi diluída



em água esterilizada e, em seguida, alíquotas de cerca de 1 mL de suspensão foram transferidas para placas de petri contendo meio MA2% (extrato de malte). As placas foram examinadas diariamente, marcando áreas com ascósporos solitários. Após emissão das primeiras hifas, as microculturas foram isoladas em outras placas. O mesmo procedimento foi adotado com microconídios do micélio aéreo.

### **4.3 Teste de patogenicidade em mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.), mudas de maracujá (*Passiflora edulis* Sims) e em tubérculos de batata (*Solanum tuberosum* L.)**

#### **4.3.1 Obtenção das mudas**

Mudas de maracujá amarelo com setenta dias de idade e de cafeeiro cultivar Acaíá Cerrado com doze meses de idade foram adquiridas de viveiro de mudas próximo a Lavras, MG. Os tubérculos de batata cultivar Monalisa foram adquiridas no Centro de Indexação de Vírus, do Departamento de Fitopatologia da UFLA.

#### **4.3.2 Produção de inóculo**

Para o estudo de patogenicidade foram selecionadas as linhagens CML 86, CML 213 e CML 223. Conídios dos fungos foram transferidos para placas de petri contendo meio de cultura V8 e incubadas em câmara de crescimento (BOD) a uma temperatura de 21°C e fotoperíodo de 12 horas sob luz negra e 12 horas no escuro, até o início da reprodução sexuada. Discos de micélio contendo estruturas reprodutivas do fungo foram utilizados para inoculação.

### 4.3.3 Inoculação das mudas

As inoculações com *Fusarium striatum*, CML 86 e CML 213, nas mudas de café e maracujá foram realizadas com adição de 10 discos de meio de cultura de 8 mm de diâmetro, contendo estruturas de propagação do fungo ao redor do hipocótilo que tinha sido anteriormente ferido com auxílio de uma lixa. As mudas ficaram protegidas por sacos plásticos por dez dias, com o intuito de formar câmara úmida. Foram utilizadas vinte mudas de maracujá e seis de café por parcela. As testemunhas não sofreram inoculação com o fungo. As avaliações foram realizadas periodicamente, atentando-se para sintomas de murcha, necrose e anelamento do hipocótilo próximo à linha do solo.

Tubérculos de batata foram inoculados com *Fusarium striatum* (CML 213), *Fusarium striatum* (CML 86) e *Fusarium oxysporum* (CML 223). Cada tubérculo recebeu um único disco de meio de cultura contendo estruturas de propagação do fungo por meio de uma abertura de aproximadamente 8 mm de diâmetro por 5 mm de profundidade. O ensaio foi conduzido sob delineamento em blocos ao acaso com três repetições, quatro tratamentos (três isolados e uma testemunha) e doze tubérculos por parcela.

O ensaio foi mantido em câmara de crescimento vegetal com temperatura de  $23\pm 2^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas luz e 12 horas no escuro. As avaliações tiveram início 72 horas após a inoculação, retirando-se a cada 24 horas dois tubérculos por parcela. Os tubérculos foram cortados perpendicularmente ao ponto de inoculação, medindo, em seguida, o diâmetro das lesões.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Isolamento, caracterização e identificação

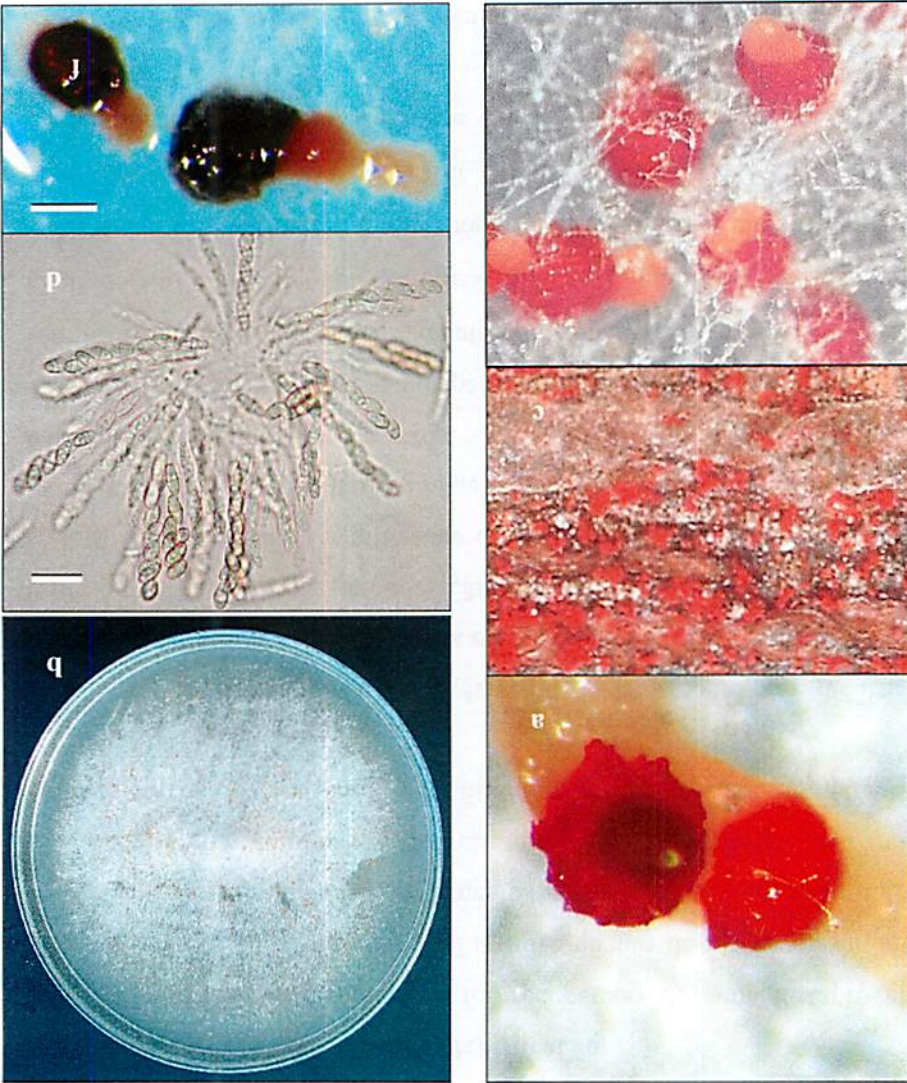
*Haematonectria ipomoeae* foi recuperado de sementes provenientes tanto de plantas com sintomas de fusariose quanto de plantas assintomáticas. Porém, a espécie foi mais freqüentemente isolada de hipocótilo, caule e de raízes de cafeeiros com sintomas de murcha. Entretanto, *Haematonectria ipomoeae* também foi recuperado como endofítico em folhas de cafeeiro aparentemente sem sintomas de doenças.

Dentre os métodos de isolamento, normalmente em incubação de pedaços de caules em câmara úmida era mais fácil de se recuperar peritécios da espécie. No entanto, para recuperação do fungo das sementes e também como endofítico, é necessária a utilização de desinfestação superficial do material e incubação em meio de cultura semi-seletivo. A escolha do método de isolamento depende do material a ser analisado.

O fungo caracteriza-se por peritécios globosos, solitários ou agregados, sem formação de estroma, de pigmentação brilhante, cor vermelha-amarronzada, medindo 330-370 x 250-290  $\mu\text{m}$ ; *ascos* cilíndricos, unitunicados, medindo 62-70 x 8-10(-11)  $\mu\text{m}$ , abrigando 8 ascósporos; *ascósporos* com um septo, elipsóides, acastanhados, estriados, (11-)12-14(-15) x 5-7,5  $\mu\text{m}$ . A espécie é homotática formando peritécios com facilidade em tecido vegetal e em meio de cultura (Figura 9).

O anamorfo pertence ao gênero *Fusarium* e apresenta *microconídios* formados em micélio aéreo asseptados, elipsóides a alongados, de 6-11 x 2-3  $\mu\text{m}$ , formados em fiálides longas, inseridos em conidióforos bastante ramificados; *macroconídios* formados em esporodóquios, com célula pé pouco acentuada, geralmente com 5 septos, 46-49 (-52) x 5  $\mu\text{m}$ ; clamidósporos presentes, geralmente solitários (Figura 10).

FIGURA 9 *Haematonectria ipomoeae*. (a, e) peritécios vermelhos com verrugas crescidos em SNA após 25 dias; (b) cultura pura com peritécios em SNA; (c) peritécios crescidos sobre tronco de caféiro; (d) ascos e ascósporos (f) peritécios escuros após teste KOH+. d, barra = 20µm; f, barra = 100 µm.



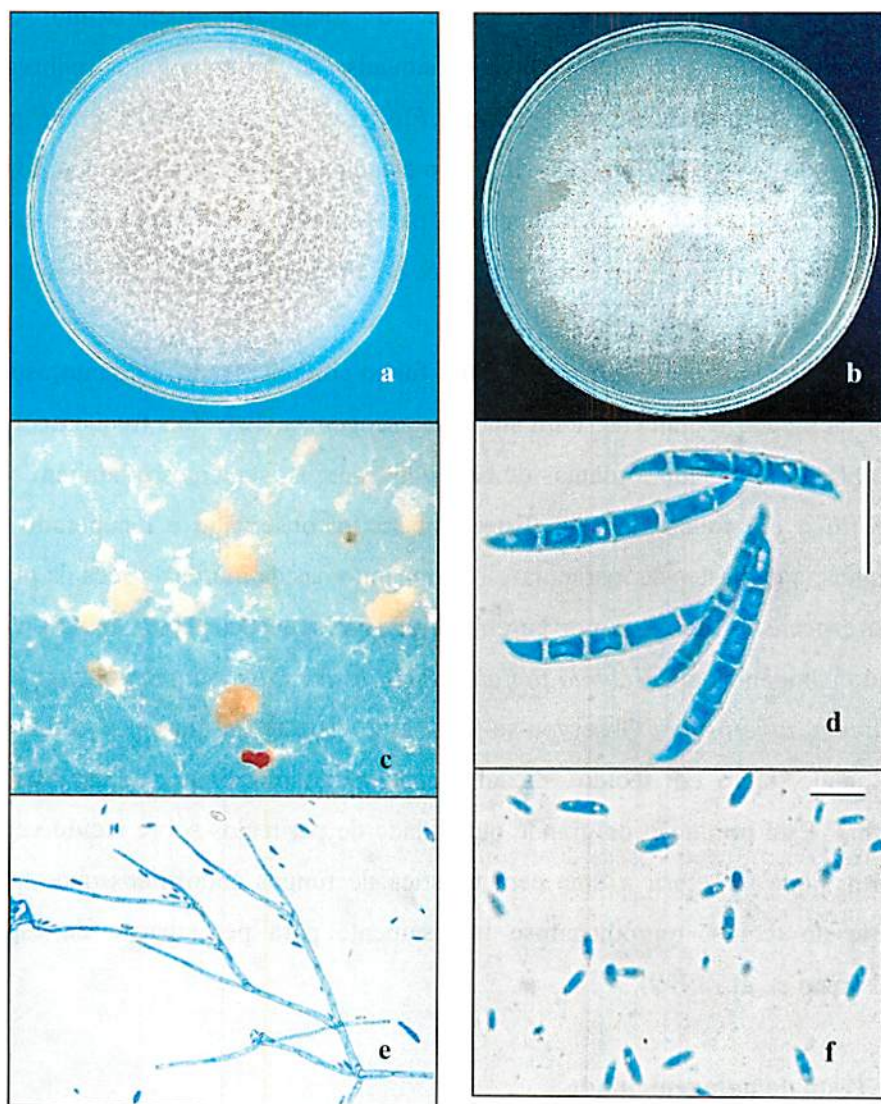


FIGURA 10 *Fusarium striatum*. (a) crescimento em OA; (b) crescimento em SNA; (c) esporodóquios; (d) macroconídios, barra = 20  $\mu\text{m}$ ; (e) células conidiogênicas longas e ramificadas; (f) microconídios, barra = 10  $\mu\text{m}$ .

De acordo com a literatura, o fungo foi identificado como *Haematonectria ipomoeae* (Halst.) Samuels & Nirenberg. Nirenberg & Brielmaier-Liebetanz (1996) sugeriram *Fusarium striatum* Sherb. como nome do anamorfo. As características do fungo estudado encontram-se de acordo com as descritas na literatura, inclusive a patogenicidade a plantas da batata e maracujá (Sherbakoff 1915; Nirenberg & Brielmaier-Liebetanz 1996; Rossman et al. 1999).

*Haematonectria ipomoeae* é um fungo comum, sendo, portanto, isolado com facilidade juntamente com sua fase ascogênica. Este foi, frequentemente, encontrado associado a plantas de café com murcha, sementes e também como endofítico em folhas de café. Este também foi observado e recuperado com frequência de hastes de maracujazeiro com sintomas de murcha e seca da planta. Esta espécie foi descrita, por Nirenberg & Brielmaier-Liebetanz (1996), como sendo patogênica à *Curcubita ficifolia*, *Passiflora edulis*, *Solanum melongena* e *Solanum tuberosum*. Observou-se que esta espécie produz peritécios com facilidade, tanto em tecido vegetal recentemente morto quanto em meio de cultura. Esta produção de grande quantidade de peritécios sobre tecido vegetal morto, pode se referir a uma característica de fungos endofíticos que, após a morte do tecido, reproduzem-se intensamente para perpetuação da espécie (Rossman et. al., 1999).

## 5.2 Teste de patogenicidade

Mudas de café com doze meses de idade inoculadas a seis meses, com *Haematonectria ipomoeae*, não manifestaram nenhum sintoma referente à fusariose em cafeeiro, como podridão do colo, de raízes, amarelecimento ou murcha. Nas plantas de maracujazeiro, avaliadas após cem dias da inoculação, também não foi observado nenhum sintoma com característica de murcha, amarelecimento foliar ou anelamento do colo das plantas.

Por outro lado, tubérculos de batata inoculados com *Haematonectria ipomoeae* foram severamente danificados após cinco dias da inoculação. Observou-se um rápido desenvolvimento do fungo e, conseqüentemente, das lesões. Os tratamentos diferiram significativamente entre si, pelo teste de F, 1%.

## 6. DISCUSSÃO

### 6.1 Taxonomia de *Haematonectria ipomoeae*

*Nectria* Fr. *sensu lato* é classificado na ordem Hypocreales, filo Ascomycota. Pode ser reconhecido por produzir ascósporos hialinos a subhialinos, não apiculados, com um ou mais septos, ascos cilíndricos, formados dentro de peritécios nas tonalidades de vermelho a amarelo. A ordem *Hypocreales* abriga atualmente seis famílias, entre elas *Bionectriaceae*, *Hypocreaceae* e *Nectriaceae*, com alguns gêneros de importância da agricultura. As principais características da família *Bionectriaceae* são o ascoma peritecióide unilocular não estromático, superficial ou imerso no substrato, de cor branca, amarela, laranja a bronzeada ou marrom, reação em KOH negativa; ascósporos unicelulares, bicelulares ou multicelulares. *Gliocladium roseum*, um fungo micoparasita e comumente utilizado em ensaios de controle biológico, foi reclassificado como *Clonostachys rosea*, com teleomorfo *Bionectria ochroleuca* (sin. *Nectria ochroleuca*) (Schroers et al., 1999).

Também na família *Hypocreaceae* encontra-se um gênero conhecido, *Hypocrea*, teleomorfo de espécies de *Trichoderma*, utilizados em sistemas de controle biológico.

Na família *Nectriaceae*, o peritécio tem coloração vermelha a púrpura escura, superficial no substrato, geralmente agregado em um estroma, com reação positiva em KOH; ascósporos unicelulares, bicelulares ou multicelulares, raramente muriformes. Os ascomas das espécies da família *Nectriaceae* são geralmente encontrados em agregados emergindo através da casca de tecido vegetal recentemente morto, especialmente em regiões tropicais. Neste grupo podem ser encontrados gêneros anamorfos importantes patógenos de plantas, como *Fusarium*, *Cylindrocarpon* ou *Cylindrocladium*. Outros são saprófitas e



ocorrem parasitando outros fungos, principalmente basidiomicetos (Samuels & Brayford, 1994).

O gênero *Nectria*, por abrigar espécies com características diferentes e filogeneticamente distantes, foi dividido, estabelecendo outros gêneros, entre eles *Albonectria*, *Lanatonectria* e *Haematonectria* (Rossman et al., 1999; O'Donnell, 2000). Em *Albonectria* são agrupadas espécies relacionadas com o grupo *Nectria rigidiuscula*. *Fusarium decemcellular*, espécie muito comum nos trópicos e patógeno de raízes de várias espécies arbóreas, inclusive do cacau, passa a ter seu teleomorfo classificado como *Albonectria rigidiuscula*. Representantes do grupo *Nectria flavolanata* são classificados em *Lanatonectria*.

*Nectria haematococca* e espécies próximas foram classificadas em *Haematonectria*. O gênero possui como espécie tipo *Haematonectria haematococca* (Berk. & Broome) Samuels & Nirenberg. O ascoma é solitário ou agregado, superficial, não obviamente estromático, mas de difícil remoção do substrato, globoso, vermelho, com verrugas vermelhas a vermelho-amareladas, KOH+, amarelos em ácido láctico. A fase assexuada pertence ao complexo *Fusarium solani*.

*Haematonectria ipomoeae* (Halst.) Samuels & Nirenberg apresenta ascoma solitário a agregado diretamente sobre o tecido do hospedeiro, às vezes em grupos ao redor de cancrios, não estromático, piriforme, vermelhos-alaranjado com verrugas. A característica principal é a homotalia. Como nome do anamorfo foi proposto *Fusarium striatum* Sherb., uma espécie do grupo *F. solani*, descrita por Sherbakoff como patogênica à batata. Em outros trabalhos, nos quais é citada a ocorrência de *Nectria haematococca*, trata-se provavelmente de *Haematonectria ipomoeae*. Entretanto, em todos os casos, deveria ser observada a homotalia (Emechebe & Mukiiibi 1976; Pierce & McCain, 1982; Nunes & Albuquerque 1995; Ploetz 1991).

Algumas espécies das *Nectriaceae* são endofíticas, residindo no interior de plantas saudáveis sem causar danos. Essas espécies formam geralmente estruturas de esporulação em abundância após a morte do hospedeiro. Apesar desta natureza saprofítica, muitas espécies são parasitas facultativos, podendo ser patógenos de plantas, causando sérios problemas para as plantas cultivadas, onde são encontradas na sua forma assexual. Como exemplo, podem-se citar *Fusarium decemcellulare*, anamorfo de *Albonectria rigidiuscula*, agente etiológico da galha-de-pontos-verdes e do intumescimento anormal das almofadas florais de cacau; *Cylindrocladium*, anamorfo de espécies de *Calonectria*, causa 'dieback' em *Eucalyptos* e outras doenças; *Fusarium sambucinum*, anamorfo de *Gibberella pulicaris*, causa podridão seca em batata e podridão de raízes em outras culturas e muitas outras espécies de *Gibberella* e seus anamorfos, incluindo *Fusarium oxysporum* que causa podridão de raízes, podridão do colo e murcha em diversas culturas Rossman et al. (1999).

## 6.2 Patogenicidade de *Haematonectria ipomoeae*

A patogenicidade de *Haematonectria ipomoeae* em mudas de cafeeiro não foi expressada, possivelmente por este não ser patogênico a esta cultura ou o tempo de incubação de seis meses não ser suficiente para a expressão de algum sintoma. A espécie foi encontrada com frequência em material assintomático do cafeeiro, evidenciando ser uma espécie endofítica de cafeeiro.

Rossman et al. (1999) descreveram que ascomas das espécies da família *Nectriaceae* são geralmente encontrados em grupos emergindo através da casca de tecido vegetal recentemente morto, especialmente em regiões tropicais. Algumas espécies são endofíticas, residindo no interior de plantas saudáveis sem causar danos. Essas espécies formam, geralmente, estruturas de esporulação em abundância após a morte do hospedeiro. Apesar desta natureza saprofítica, muitas espécies, principalmente as pertencentes à família *Nectriaceae*, são

parasitas facultativos, podendo ser patógenos de plantas, causando sérios problemas para as plantas cultivadas, onde são encontradas na sua forma assexual. Portanto, esta espécie pode ser endofítica e não patogênica ao cafeeiro. Todavia, novos testes de patogenicidade devem ser realizados para confirmação ou não da patogenicidade de *Haematonectria ipomoeae* em cafeeiro, pois, até o momento, este foi o primeiro relato deste fungo em associação com *Coffea arabica* no Brasil.

Em mudas de maracujazeiro avaliadas cem dias após a inoculação, também não foram observados sintomas de anelamento, amarelecimento ou morte das mudas. Provavelmente, o período de cem dias é insuficiente para manifestação dos sintomas, uma vez que Emechebe & Mukiibi (1976), observaram que a maioria das plantas inoculadas com *Nectria haematococca* homotática apresentaram murcha no período de seis meses. Ploetz (1991), também recuperou com frequência uma espécie homotática de *Nectria haematococca* de plantas de maracujá assintomáticas, indicando que o cancro causado por esta espécie pode ser perpetuado de forma latente em plantas aparentemente saudáveis. No entanto, é de comprovada patogenicidade em maracujazeiro. O mesmo foi observado por Nunes & Albuquerque (1995) no estado do Pará. Entretanto, pela descrição do patógeno, a homotalia e o comportamento patogênico, é provável tratar-se da mesma espécie, *Haematonectria ipomoeae*.

Pelos resultados referentes a diâmetro de lesões em tubérculos de batata, em função das espécies inoculadas e tempo de avaliação, observou-se que não houve diferença no diâmetro das lesões após 72 horas de inoculação em comparação com a testemunha (Tabela 7). No entanto, após 96 horas de inoculação, *Haematonectria ipomoeae* (CML 213) e *Haematonectria ipomoeae* (CML 86) diferiram da testemunha e de *Fusarium oxysporum* (CML 223) promovendo lesões com diâmetros maiores. No tempo de 120 horas após a

inoculação, *Haematonectria ipomoeae* (CML 213) diferiu dos demais isolados, apresentando maior severidade. Já o isolado *Haematonectria ipomoeae* (CML 86) diferiu da testemunha e de *Fusarium oxysporum* (CML 223). Estes não diferiram entre si, pelo teste de Scott Knott ( $P = 0,001$ ).

Pelas equações de regressão linear (Figura 11), verificou-se que o isolado *Haematonectria ipomoeae* (CML 213) apresenta severidade maior que *Haematonectria ipomoeae* (CML 86), tanto a 96 horas após inoculação quanto a 120 horas. Portanto, em tubérculos de batata, *Haematonectria ipomoeae* (CML 213) mostrou-se patogênico. Estes resultados reforçam a patogenicidade de *Haematonectria ipomoeae* a *Solanum tuberosum* L. descrito por Nirenberg & Brielmanier-Liebetanz (1996).

TABELA 7 Comparação entre espécies de *Fusarium* na severidade de lesão (diâmetro) em tubérculos de batata às 72, 96 e 120 horas após a inoculação

Tratamentos	72 horas	96 horas	120 horas
Testemunha	9,7 a	9,7 a	10,0 a
CML 223	11,2 a	12,3 a	10,0 a
CML 86	11,3 a	15,3 b	15,8 b
CML 213	12,0 a	17,3 b	20,6 c

\*Os valores são médias de três repetições e médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott Knott, a 1% de probabilidade.

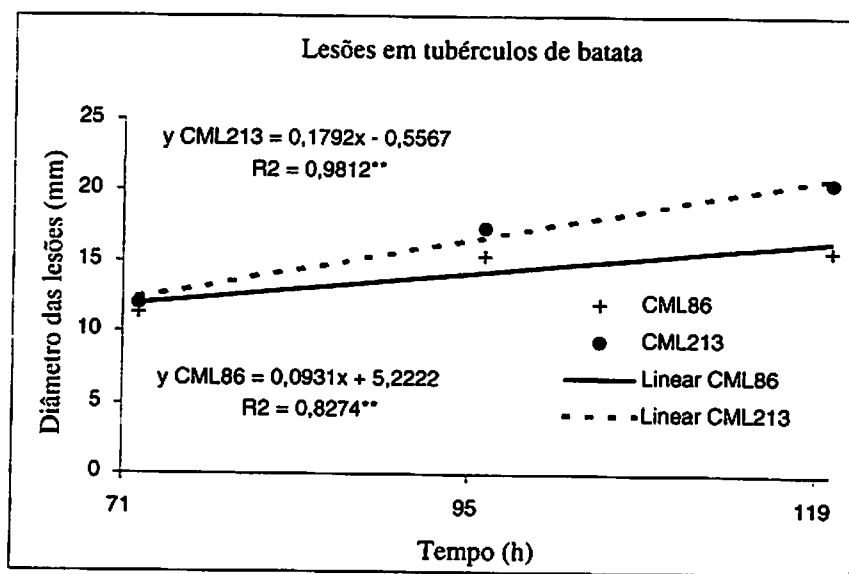


FIGURA 11 Representação gráfica e equações de regressão para diâmetro das lesões em tubérculos de batata causados por *Haematonectria ipomoeae* CML 86 e CML 213.

## 7 CONCLUSÕES

A espécie de *Nectria* homotática encontrada foi identificada como *Haematonectria ipomoeae* (anamorfo *Fusarium striatum* Sherb.).

*Haematonectria ipomoeae* é endofítica de cafeeiros.

Os testes de patogenicidade em mudas de cafeeiro e maracujá não foram conclusivos. Portanto, é necessário realizar mais testes de patogenicidade de preferência em condições controladas e as avaliações devem ser realizadas, pelo menos, até seis meses após a inoculação.

Os testes de patogenicidade em tubérculos de batata foram significativos para *Haematonectria ipomoeae* (CML 213) e *Haematonectria ipomoeae* (CML 86).

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- EMECHEBE, A. M.; MUKIIBI, J. *Nectria* collar root rot of Passion fruit in Uganda. **Plant Disease Reporter**, v.60, n.3, p.227-231, Mar. 1976.
- NIRENBERG, H. I. ; BRIELMAIER-LIEBETANZ, U. *Nectria ipomoeae* Halst., anamorph: *Fusarium striatum* Sherb., an *Passiflora edulis* Sims. **Nachrichtenblatt Deutscher Pflanzenschutzdienst**, n.48, p.270-275, 1996.
- NUNES, A. M. L.; ALBUQUERQUE, F. C. Podridão do coleto do maracujazeiro (*Passiflora edulis*). **Fitopatologia Brasileira**,
- O'DONNELL K. Molecular phylogeny of the *Nectria haematococca* - *Fusarium solani* species complex. **Mycologia**, v.92, n.5, p.919-938, 2000.
- PFENNING L. H. 2002. O gênero *Fusarium*: novas tendências na sistemática e patossistemas emergentes. **Fitopatologia Brasileira**, n.27. p.S21-23 Suplemento. (Resumo Expandido).
- PIERCE, L.; McCAIN, A. H. Stem rot and wilt of *Exacum affine* caused by *Nectria haematococca*. **Plant Disease**, v.66, p.161-163, 1982.
- PLOETZ, R. C. Sudden wilt of passionfruit in Southern Florida caused by *Nectria haematococca*. **Plant Disease**, v.75, n.10, p.1071-1073, Oct. 1991.
- ROSSMAN, A. Y. et al., Genera of *Bionectriaceae*, *Hypocreaceae* and *Nectriaceae* (*Hypocreales*, *Ascomycetes*). **Studies in Mycology**, n.42,1999, 248 p.
- SAMUELS, G. J.; BRAYFORD, D. Species of *Nectria* (*sensu lato*) with red perithecia and striate ascospores. **Sydowia**, v.46, n.1, p.75-161, 1994.
- SCHROERS, H. J. et al. Classification of the mycoparasite *Gliocladium roseum* in *Clonostachys* as *C. rosea*, its relationship to *Bionectria ochroleuca*, and notes on other *Gliocladium*-like fungi. **Mycologia**, v.91, p. 365-385, 1999.
- SHERBAKOFF, C. D. Fusaria of potatoes. **Memoirs Cornell University Agricultural Experimental Station**, n.6, p.87-270, 1915.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os sintomas atribuídos a *Fusariose* em cafeeiros observados na região sul de Minas Gerais, foram o amarelecimento descendente do topo da planta, seguido por murcha e culminando com a seca e morte das plantas. Os tecidos internos do caule apresentavam coloração escura e as plantas afetadas encontravam-se em reboleiras. Estes sintomas foram observados em lavouras com idade entre dez e trinta anos. Em plântulas no estágio de “palito de fósforo” observaram-se sintomas de podridão de hipocótilo, com posterior seca e queda dos cotilédones, mesmo antes da liberação das folhas cotiledonares.

Foram recuperados de hipocótilos, sementes, caules e raízes mais de 90 isolados de *Fusarium*, sendo caracterizadas e identificadas 7 espécies: *Fusarium dimerum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium solani*, *Fusarium stilboides* e *Fusarium striatum* Sherb. com sua forma ascogênica *Haematonectria ipomoeae* (Halst.) Samuels & Nirenberg. Dentre as espécies isoladas, *Fusarium dimerum* e *Haematonectria ipomoeae* foram, pela primeira vez, mencionadas nesta cultura.

Os testes de patogenicidade realizados com *Fusarium oxysporum*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium solani*, *Fusarium stilboides* e *Haematonectria ipomoeae* (anamorfo *Fusarium striatum*) em plantas de cafeeiro das cultivares Acaia Cerrado e Catuaí, com idades de dois e oito meses não foram conclusivos. Possivelmente, o período de avaliação de seis meses não é suficiente para avaliar sintomas de fusariose (amarelecimento e murcha) ou, por se tratar de um patógeno vascular, este não infectou as mudas de café devido não terem sistema vascular desenvolvido ou por não serem patogênicos. A concentração de inóculo também deve ser considerada.



Portanto, em trabalhos futuros de patogenicidade devem ser utilizadas mudas com sistema vascular desenvolvido, com, pelo menos, doze meses de idade. O tempo de avaliação também é um problema, pois trata-se de uma planta perene e não se sabe quando e em que condições ocorrerá expressão dos sintomas. Com isso, deve-se prolongar o tempo de avaliação. A concentração de inóculo a ser utilizada também é um fator importante e, provavelmente, numa concentração de  $1,0 \times 10^7$  conídios mL<sup>-1</sup>.

Observou-se que as sementes são potencial fonte de inóculo, podendo disseminar diferentes espécies de *Fusarium* no viveiro, causando morte de plântulas no estágio de “palito de fósforo”. Portanto, estudos de transmissão de *Fusarium* via sementes são necessários, para melhor entendimento dessa doença.

