

Fusariose em Mudas de *Pinus taeda*

*Albino Grigoletti Júnior*¹

*Cristiane Paris*²

*Celso Garcia Auer*³

RESUMO

Viveiros comerciais têm apresentado mudas de *Pinus taeda* com sintomas de murcha e seca de ponteiros e morte, na Região Sul do Brasil. Isolamento em meio BDA e câmara úmida, teste de patogenicidade e microcultivo foram feitos para identificar o patógeno. Uma espécie de *Fusarium* foi isolada, cuja identificação encontra-se em andamento. Verificou-se pelos postulados de Koch que *Fusarium* sp. foi o agente causal dessa doença.

Palavras-chave: Doença radicular, viveiro, fungo.

Fusarium disease on *Pinus taeda* seedlings

ABSTRACT

Nurseries has presented *Pinus taeda* seedling with symptoms of wilt, tip blight and death, in Southern Region of Brazil. Isolation on PDA medium, moist chamber, pathogenicity test and microculture were made to identify the pathogen. A species of *Fusarium* was isolated, which is under identification. It was verified by Koch postulates that *Fusarium* sp. was the causal agent of this disease.

Keywords: Root disease, nursery, fungi.

¹ Engenheiro Agrônomo, Doutor, pesquisador da *Embrapa Florestas*, email: albino@cnpf.embrapa.br

² Acadêmica em Biologia, PUCPR, email: Cristiane_paris@hotmail.com

³ Engenheiro Florestal, Doutor, pesquisador da *Embrapa Florestas*, email: auer@cnpf.embrapa.br

1. INTRODUÇÃO

A grande demanda por madeira de pinus na Região Sul do Brasil, no final do século 20, fez com que se intensificassem os plantios florestais dessa árvore e, conseqüentemente, houve um grande aumento na produção de mudas. Nos viveiros, sejam eles tecnificados ou não, em função das condições ambientais, podem ocorrer problemas fitossanitários, principalmente aqueles provocados por fungos fitopatogênicos. A principal doença que ocorre nos viveiros de pinus é o tombamento de mudas, entretanto, as podridões de raízes podem ocorrer (AUER et al., 2001). Durante o ano de 2006, o Laboratório de Fitopatologia da *Embrapa Florestas*, recebeu várias amostras de mudas de pinus que apresentavam sintomas de seca e encurvamento de ponteiros, que progrediam até a morte das mudas. Esses sintomas têm preocupado os viveiristas, em função do desconhecimento do agente causal e das perdas econômicas ocorridas. O objetivo deste trabalho foi identificar o agente causal da morte de mudas de *Pinus taeda* L. em viveiros.

Mudas doentes de *P. taeda* foram coletadas em viveiros localizados em São José dos Pinhais, PR, e Irani, SC, com sintomas típicos de seca e encurvamento de ponteiros (Figuras 1A e 1B) para isolamento em meio de cultura e montagem de câmara úmida. Fragmentos de raízes com sintomas foram rapidamente imersos em álcool 70 % e depois mergulhados por 30 s em solução de hipoclorito de sódio 1 %. Em seguida, os fragmentos desinfestados foram plaqueados em meio BDA (batata-dextrose-ágar) e colocadas para incubação a temperatura ambiente de laboratório. Algumas mudas foram colocadas em câmara úmida em sacos plásticos umedecidos com água destilada esterilizada e mantidas em condições de laboratório, para estimular a esporulação do fungo presente. Após sete dias de incubação, as colônias formadas em meio BDA e as estruturas fúngicas desenvolvidas nas câmaras úmidas foram repicadas para novas placas com meio BDA para purificar os fungos presentes.

Para verificar e acompanhar detalhadamente a formação das estruturas reprodutivas do fungo, fez-se a técnica de microcultivo (KERN & BLEVINS, 1999). O fungo foi cultivado em discos de meio BDA, com 1,5 cm de diâmetro, colocado entre lâminas e laminula e mantido em placas de Petri, incubado a temperatura e luminosidade ambientes. Periodicamente, foram feitas as observações microscópicas do desenvolvimento das estruturas fúngicas. Quando as estruturas reprodutivas foram visualizadas, fez-se a montagem de lâminas semi-permanentes

com uma gota de lactofenol-azul de algodão 0,05 % sobre o micélio e esporos do fungo.

Para comprovar a patogenicidade dos isolados, foram utilizadas 235 mudas sadias de *P. taeda*, com cerca de quatro meses de idade. Dessas 139 mudas, foram inoculadas 96 por meio da imersão de raízes podadas em uma suspensão de cerca de 10^6 conídios/mL de um isolado de *Fusarium* obtido do isolamento. Mais 43 foram podadas e plantadas em substrato infestado pela rega da mesma suspensão de conídios e as 96 restantes foram podadas e imersas em água destilada esterilizada, utilizadas como tratamento controle. Após esse procedimento, as mudas foram plantadas em tubetes e mantidas em casa-de-vegetação por 60 dias e o sintoma de murcha e seca do ponteiro foi avaliado a cada dez dias.

Nas mudas em câmara úmida, surgiram colônias esbranquiçadas sobre as raízes e na região do colo, que quando observadas ao microscópio, mostraram ser estruturas típicas do gênero *Fusarium*. Na região do colo, apareceram massas esbranquiçadas constituídas pelos esporodóquios desse patógeno. Em meio BDA, o principal fungo isolado foi o *Fusarium*.

As mudas de *P. taeda* inoculadas apresentaram sintomas a partir de 10 dias da inoculação. Na parte aérea, ocorreu redução no crescimento da muda, descoloração das acículas para um tom verde-amarelado, seguida de murcha. Em seguida, a parte apical da muda começou a secar e curvar-se para baixo (Figura 1B). Cerca de 60 % das mudas inoculadas por meio de imersão de raízes e 48 % das plantadas em substrato contaminado reproduziram os sintomas típicos da doença, 60 dias após a inoculação. No sistema radicular, ocorreu redução no desenvolvimento e necrose das raízes atacadas, quando comparadas com raízes de plantas sadias (Figura 1C). Seguindo-se os postulados de Koch, o reisolamento do fungo por meio do plaqueamento de fragmentos das raízes doentes, em meio BDA, recuperou o isolado de *Fusarium* sp., comprovando a associação do patógeno com a doença (Figura 1G).

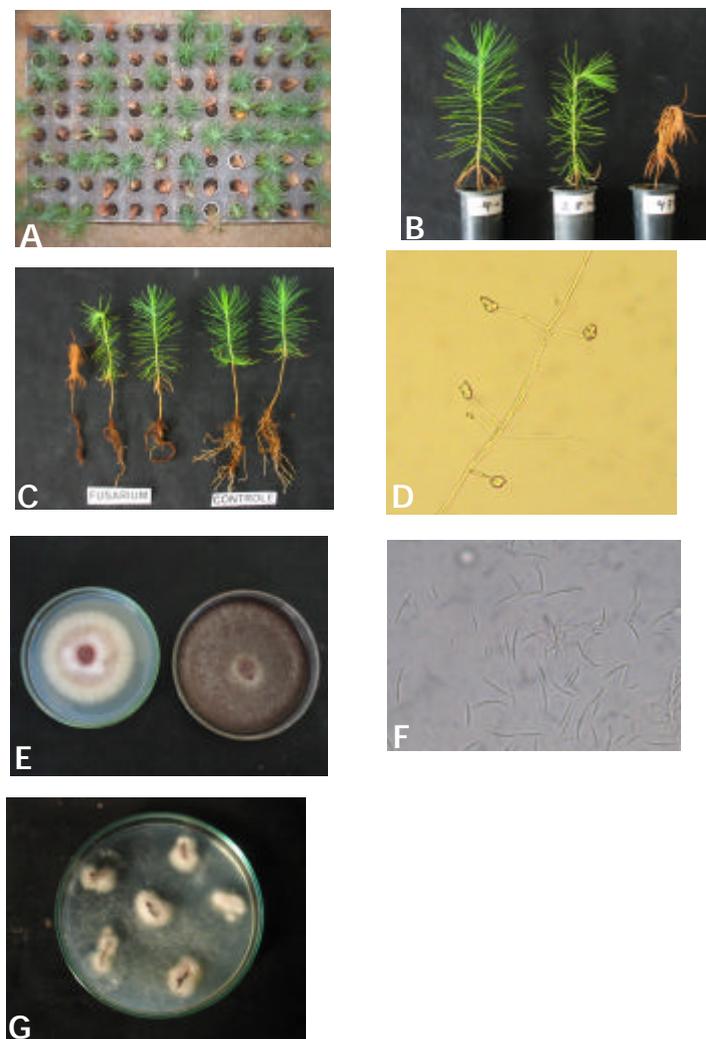


Figura 1. A) Bandeja de mudas de *Pinus taeda* com alta incidência de fusariose; B) Sequência de sintomas de murcha na parte aérea; C) Sintomas de podridão no sistema radicular; D) Fotomicrografia mostrando microconídios formados em fiáldes e falsas cabeças de *Fusarium*; E) Aspecto das colônias de *Fusarium* sp. em meio BDA; F) Detalhe dos macroconídios de *Fusarium* sp.; G) Reisolamento de *Fusarium* sp. a partir de fragmentos lesionados de plantas inoculadas.

As colônias de *Fusarium* apresentaram coloração vinácea em meio BDA, inicialmente no centro e depois tingindo todo o meio (Figura 1D), formando primeiramente microconídios, asseptados, mas ocasionalmente com um septo, hialinos, fusiformes a clavados, formados em microconidióforos simples, laterais, formados sobre a hifa aérea, podendo estar reunidos e formar uma falsa cabeça (Figura 1E). Após duas semanas foram observados os macroconídios, fusóides, freqüentemente com uma célula apical pontiaguda curva e uma célula basal pedicelada, normalmente com três a quatro septos (Figura 1F). No microcultivo, observou-se a formação dos microconídios. Não houve a formação de clamidósporos, após 30 dias de cultivo. Pelas características observadas, a espécie que mais se aproxima seria *Fusarium subglutinans* (Wollenw. & Reinking) Nelson (BOOTH, 1971; TOUSSOUN & NELSON, 1976; NIRENBERG & O'DONNELL, 1998). Um estudo taxonômico de identificação encontra-se em andamento.

Várias espécies de *Fusarium* foram associados ao gênero *Pinus* no Brasil (VENTURA, 1999), principalmente com patologia de sementes e em tombamento de mudas (MENDES et al., 1998). Homechin et al. (1986) constataram *F. moniliforme*, *F. oxysporum* e *F. semitectum* em lotes nacionais de sementes de *P. elliotii* var. *elliotii* e *F. oxysporum* em sementes de *P. taeda*. A partir de um teste de patogenicidade com plântulas de *P. elliotii* var. *elliotii*, esses autores verificaram somente a capacidade de *F. oxysporum* causar sintomas necróticos no colo e nas raízes, sem testar a patogenicidade de *F. moniliforme*.

Com relação aos sintomas de murcha e morte provocados por *Fusarium* sp. em mudas de *P. taeda*, no presente estudo, sintomas similares já haviam sido registrados em mudas de *P. elliotii* var. *elliotii* por Krugner et al. (1970), porém relacionando *F. oxysporum* como o agente causal. O fungo desse estudo não possui as características de *F. oxysporum*. Assim, verificou-se a capacidade de *Fusarium* sp. causar podridão de raízes em mudas de *P. taeda*. De acordo com a literatura (HOMECHIN et al., 1986), postula-se que a fonte de inóculo inicial da doença possa ter se originado pela transmissão do patógeno através de sementes infestadas para o viveiro.

2. REFERÊNCIAS

- AUER, C. G.; GRIGOLETTI JUNIOR, A.; SANTOS, A. F. **Doenças em Pinus**: identificação e controle. Colombo: Embrapa Florestas, 2001. 28 p. (Embrapa Florestas. Circular técnica, 48).
- BOOTH, C. **The genus *Fusarium***. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1971. 237 p.
- HOMECHIN, M.; PIZZINATTO, M. A.; MENTEN, J. O. M. Sanidade de sementes de *Pinus elliottii* var. *elliottii* e *Pinus taeda* e patogenicidade de *Fusarium oxysporum* em plântulas de *Pinus elliottii* var. *elliottii*. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 12, n. 1/2, p. 102-112, 1986.
- KERN, M. E.; BLEVINS, K. S. **Micologia médica**. 2. ed. São Paulo: Premier. 1999. 256 p.
- KRUGNER, T. L.; CARVALHO, P. G. T.; GALLI, F. Nota prévia sobre a ocorrência de *Fusarium* sp. em *Pinus elliotti* Engelm. **O Solo**, Piracicaba, ano 62, n. 1. p. 45-48, 1970.
- MENDES, M. A. S.; SILVA, V. L. da; DIANESE, J. C.; FERREIRA, M. A. S. V.; SANTOS, C. E. N. dos; GOMES NETO, E.; URBEN, A.F.; CASTRO, C. **Fungos em plantas no Brasil**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI: EMBRAPA-CENARGEN. 1998. 569 p.
- NIRENBERG, H. I.; O'DONNELL, K. New *Fusarium* species and combinations within the *Gibberella fujikuroi* species complex. **Mycologia**, New York, v. 90, n. 3, p. 434-458, 1998.
- TOUSSOUN, T. A.; NELSON, P. E. **A pictorial guide to the identification of *Fusarium* species, according to the taxonomic system of Snyder and Hansen**. 2nd. ed. Pennsylvania: The Pennsylvania State University Press, 1976. 43 p.
- VENTURA, J. A. Taxonomia de *Fusarium* e seus segredados. I – história, meios e procedimentos de cultivo. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 7, p. 271-298, 1999.