

Ocorrência, métodos de inoculação e agressividade de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* em *Heliconia* spp.

Neilza Reis Castro^{1*}, Rildo Sartori Barbosa Coêlho², Delson Laranjeira¹, Erick Farias Couto¹, Manuela Barbosa Rodrigues de Souza¹

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. Departamento de Agronomia/Fitossanidade, CEP 52171-900, Recife, PE, Brasil, e-mail: neilzacaastro@gmail.com; ²Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA. Recife, PE, Brasil

*Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor, Bolsista CNPq

Trabalho desenvolvido com apoio da FACEPE/PROMATA.

Autor para correspondência: Neilza Reis Castro

Data de chegada: 02/04/2007. Aceito para publicação em: 18/11/2007

1468

RESUMO

Castro, N.R.; Coelho, R.S.B; Laranjeira, D.; Couto, E.F.; Souza, M.B.R. Ocorrência, métodos de inoculação e agressividade de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* em *Heliconia* spp. *Summa Phytopathologica*, v.34, n.2, p.127-130, 2008

A murcha de fusário, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, vem sendo diagnosticada em áreas produtoras de helicônias, uma das plantas ornamentais mais apreciadas da floricultura tropical. Neste trabalho, os objetivos foram verificar a ocorrência da doença em propriedades produtoras de helicônias, avaliar a eficiência de métodos de inoculação do patógeno e caracterizar, quanto à agressividade, os isolados obtidos. Foram visitadas 28 propriedades em Pernambuco, Alagoas e Sergipe, nas quais foram coletados materiais vegetais com sintomas característicos da doença, para a obtenção dos isolados. Os métodos de inoculação testados foram o de injeção com 10 mL da suspensão fúngica no colo das plantas suscetíveis, *Heliconia psittacorum* x *H. spathocircinata* cv. Alan

Carle; deposição de 20 mL da suspensão no solo pela técnica de “meia lua” e “dipping” (30 e 60 minutos). A avaliação da agressividade dos isolados foi realizada pela inoculação de discos da colônia do fungo, crescidos em meios de cultura, em colmos destacados da planta, que ficaram em condição de câmara úmida por cinco dias. Das propriedades visitadas 88% apresentavam a doença, de onde se obtiveram 31 isolados de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*. Quanto à inoculação, o método de injeção foi o mais eficiente, reproduzindo os sintomas da doença aos 36 dias após a inoculação. Quanto à agressividade, dez isolados foram agrupados como os de maior agressividade, 13 apresentaram agressividade intermediária e oito isolados como os de menor agressividade.

Palavras-chave adicionais: murcha de fusário, grau de infecção

ABSTRACT

Castro, N.R.; Coelho, R.S.B; Laranjeira, D.; Couto, E.F.; Souza, M.B.R. Occurrence, inoculation methods and aggressivity of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* in *Heliconia* spp. *Summa Phytopathologica*, v.34, n.2, p.127-130, 2008

Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), have been observed in production fields of *heliconias* flower, one of the most appreciate plants in tropical flowers culture. The objectives of this work were verify the disease occurrence in production fields of tropical flowers, evaluate efficiency or inoculation methods and severity characterization for obtained isolates. Periodic visits in twenty-eight fields production were realized aimed to collect parts of plants with diseases symptoms, for the obtation of isolates. The inoculation methods tested were injection of 10mL of fungi suspension on botton of susceptible *Heliconia psittacorum* cv. Alan Carle plants,

deposition of 20 ml of suspension on soil by “meia lua” technique and, “dipping” (30 and 60 min). Evaluation of isolates aggressivity was realized by inoculation of mycelium disks on stems obtained of culture medium, detached of plant, incubated at humid chamber for five days. Results of this work showed that 88% of visited fields production have *Fusarium* wilt, being collected 31 isolates of Foc. At incubation methods, injection was more efficient, reproducing typical symptoms in 36 days after inoculation. For aggressivity, eight isolates were grouped with higher aggressivity, 15 as intermediary aggressivity and eight isolates with lower aggressivity.

Additional keywords: *Fusarium* wilt, infection degree.

Fusarium oxysporum f. sp. *cubense* (E.F. Smith) Snyd. & Hans., agente causal da murcha de fusário, é um patógeno habitante de solo, de ocorrência comum em regiões de cultivo de bananeira e encontrado também nos cultivos de flores tropicais, mais precisamente em *Heliconia* spp. Provoca sintomas como amarelecimento progressivo

nas folhas mais velhas, murcha, com posterior quebra do peciolo da folha e pontuações pardo-avermelhadas no pseudocaule e rizoma. A obstrução vascular evolui e pode causar a morte da planta (4).

Este patógeno apresenta grande capacidade de sobrevivência no solo dificultando o controle da doença, que basicamente é realizado

através do uso de cultivares resistentes.

De acordo com Stover & Waite (9), quatro raças de *F. oxysporum* f. sp. cubense são conhecidas, distinguidas por cultivares diferenciadoras. As raças 1, 2 e 4 atacam as cultivares de bananeira Gros Michel, Bluggoe e Cavendish e a raça 3 infecta especificamente espécies de helicônia. A raça 3 vem despertando questionamentos por ser considerada pertencente à forma *specialis cubense*, apesar da dissimilaridade genética entre as hospedeiras do gênero *Musa* e *Heliconia*. Em helicônias, o fungo foi primeiramente reportado na Costa Rica, e, subseqüentemente, diagnosticado em plantas originadas de Honduras, Costa Rica, Panamá e Colômbia na década de 60 (14). Atualmente, a murcha de fusário vem sendo detectada nas áreas produtoras de flores tropicais no Brasil, principalmente no Nordeste, uma vez que a atividade vem se tornando economicamente importante. A doença já havia sido detectada em algumas propriedades em Pernambuco (6).

Diferentes métodos de inoculação vêm sendo utilizados para avaliar a patogenicidade nas espécies *F. oxysporum* f. sp. cubense, *F. oxysporum* f. sp. tracheiphilum (E.F.Smith) Snyder & Hansen, *F. oxysporum* f. sp. phaseoli Kendrick e Snyder, *F. oxysporum* Schlecht f. sp. vasinfectum (Atk.) Snyd. & Hans. e *F. oxysporum* Schlecht. f.sp. cucumerinum J.H. (2, 8, 9, 11, 12, 15). Geralmente, o método mais utilizado é o "dipping" ou imersão de raízes em suspensão de inóculo do fungo, na concentração 10^6 conídios.mL⁻¹.

Diante do pouco conhecimento do patossistema *Heliconia* spp. x *F. oxysporum* f. sp. cubense, o objetivo do trabalho foi determinar a ocorrência da murcha de fusário em propriedades produtoras de flores tropicais nos Estados de Pernambuco, Alagoas e Sergipe, avaliar métodos de inoculação dos isolados e verificar a agressividade dos isolados do patógeno.

MATERIAL E MÉTODOS

Ocorrência de murcha de fusário em *Heliconia* spp. e obtenção de isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense

Foram realizadas coletas em 28 propriedades produtoras de flores tropicais nos estados de Pernambuco, Alagoas e Sergipe, no período de março a junho de 2004. Materiais vegetais, apresentando sintomas característicos da doença, foram coletados e levados ao laboratório para os procedimentos de diagnose. Fragmentos de rizomas e pseudocaules foram desinfestados em solução de hipoclorito de sódio (1,5%) e água destilada esterilizada, plaqueados em meio BDA (batata-dextrose-ágar) e incubados, por quatro dias, em alternância luminosa (12h/12h) em luz fluorescente (7,35 W/m²), a 25°C ±2. Após a identificação do agente causal, pela observação microscópica, os isolados foram preservados em tubos de ensaio contendo BDA.

Métodos de inoculação de *Fusarium oxysporum* f.sp. cubense

Utilizou-se plantas de *Heliconia psittacorum* L. x *Heliconia spathocircinata* Aristigueta cv. Alan Carle, com 45 dias de idade e cultivadas em solo de textura areia franca esterilizado. A suspensão de conídios foi preparada a partir de colônias fúngicas aos sete dias de cultivo. A concentração usada foi 10^6 con.mL⁻¹. Foram utilizados os seguintes métodos de inoculação: a) injeção de 10 mL de suspensão do inóculo no colo da planta por meio de agulha hipodérmica; b) imersão ou "dipping" de raízes em suspensão fúngica por 30 minutos; c) imersão ou "dipping" de raízes em suspensão fúngica por 60 minutos; d) deposição de suspensão em solo ou "meia lua" no volume de 20 mL de suspensão por planta; e, e) testemunha não inoculada. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições.

A avaliação dos métodos foi realizada aos 36 dias após a inoculação, com base em escala de notas variando de 1 a 6 (3) e os dados foram transformados em raiz quadrada ($x + 0,5$), analisados estatisticamente através do programa Statistic e as diferenças estatísticas entre as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (P = 0,05).

Agressividade de isolados de *Fusarium oxysporum* f.sp. cubense

Os isolados foram cultivados em placas de Petri contendo BDA, por sete dias, sob alternância luminosa e em condições ambientais. Colmos de plantas de helicônia da cultivar Alan Carle com 40 dias de idade foram desinfestados em solução de hipoclorito de sódio (1,5%), perfurados e inoculados com discos de cultura contendo colônia fúngica (6 mm de diâmetro). Os colmos foram acondicionados em câmara úmida por cinco dias. Foram utilizadas bandejas plásticas contendo papel de filtro esterilizado, umedecido com água destilada, envoltas em sacos plásticos de polipropileno e mantidas sob alternância luminosa (7,35 W/m²). A avaliação foi baseada em escala diagramática proposta por Cordeiro & Dantas (3). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com nove repetições, e analisado estatisticamente pelo teste de agrupamento de Scott-Knot (P = 0,05).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A murcha de fusário em helicônia foi constatada em 88% das propriedades visitadas, o que corresponde a 24 propriedade. Foram obtidos 31 isolados, dos quais 23 de Pernambuco (municípios de Paulista, Camaragibe, Goiana, Paudalho, Cabo de Santo Agostinho e Ribeirão), sete isolados de Alagoas (municípios de Rio Largo, Paripueira e Marechal Deodoro) e um isolado de Sergipe (município de Boquim). As espécies de helicônias avaliadas foram *H. psittacorum* L. cv. Alan Carle, *Heliconia stricta* Huber cv. Tagami, *Heliconia wagneriana* Peters, *Heliconia chartacea* Lom. cv. Sexy Pink e *Heliconia orthotricta* L. Andersson cv. Eclipse Total (Tabela 1.). A maioria das helicônias infectadas pertenciam à cultivar Alan Carle. A cultivar foi relatada por Lins & Coêlho (6) como hospedeira da doença em Pernambuco, nos anos de 2001 e 2002, e na época a ocorrência estava em torno de 10% em 15 propriedades visitadas. Neste trabalho verificou-se aumento considerável na ocorrência da doença em relação ao trabalho de Lins & Coelho (6), provavelmente em consequência da ampliação da atividade e da comercialização de materiais propagativos contaminados. A nível mundial, há apenas relatos da ocorrência da murcha de fusário na Costa Rica, em espécies de *Heliconia caribaea* Lam. (13) e, também, na Austrália em *H. chartacea* (1).

Em relação aos métodos de inoculação testados, constatou-se que o de injeção foi o mais eficiente, proporcionando sintomas característicos da doença em menor espaço de tempo (36 dias após a inoculação), diferenciando-o em grau de infecção dos demais (Tabela 2). Este resultado sugere mais um método alternativo e eficiente de inoculação para o patógeno em questão, uma vez que a maioria dos trabalhos de inoculação com outras espécies de *Fusarium*, como fizeram uso do "dipping" de raízes, como exemplo, *F. oxysporum* f. sp. tracheiphilum, *F. oxysporum* f. sp. phaseoli, *F. oxysporum* f. sp. vasinfectum e *F. oxysporum* f. sp. cucumerinum (2, 7, 9, 11). Divergindo do resultado obtido neste trabalho, o método de injeção não foi eficiente para testes de patogenicidade em outras espécies fúngicas como verificado em estudos de patogenicidade de *F. subglutinans* Wollen & Reinking na base de folhas destacadas de abacaxizeiro e *Diaporthe phaseolorum* Morgan-Jones em plantas de soja (5, 10).

A agressividade dos 31 isolados indicou a formação de três grupos denominados como de maior agressividade, agressividade intermediária

Tabela 1. Agressividade de isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense.

Isolado	Origem	Agressividade
F17	Marechal Deodoro – AL ¹	2,078 a
F8	Paudalho – PE ¹	2,048 a
F32	Camaragibe – PE ⁵	2,026 a
F27	Goiana – PE ¹	2,022 a
F33	Ribeirão – PE ¹	2,000 a
F4	Goiana – PE ¹	1,996 a
F14	Rio Largo - AL ¹	1,996 a
F11	Camaragibe – PE ²	1,933 a
F19	Camaragibe – PE ³	1,910 a
F22	Paulista – PE ¹	1,910 a
F25	Camaragibe - PE ¹	1,851 b
F12	Camaragibe – PE ⁴	1,851 b
F6	Paulista – PE ¹	1,845 b
F26	Goiana - PE ¹	1,821 b
F2	Paulista - PE ¹	1,817 b
F18	Paulista – PE ¹	1,815 b
F3	Camaragibe – PE ²	1,767 b
F21	Rio Largo – AL ⁴	1,791 b
F29	Rio Largo – AL ¹	1,786 b
F1	Rio Largo - AL ¹	1,767 b
F7	Goiana – PE ³	1,761 b
F16	Camaragibe – PE ¹	1,756 b
F10	Paripueira – AL ¹	1,738 b
F5	Goiana – PE ¹	1,650 c
F15	Camaragibe - PE ¹	1,590 c
F28	Cabo de Santo Agostinho – PE ¹	1,590 c
F9	Boquim - SE ¹	1,585 c
F31	Rio Largo - AL ¹	1,555 c
F13	Paulista - PE ¹	1,520 c
F24	Goiana - PE ¹	1,484 c
F30	Camaragibe - PE ¹	1,414 c

Médias de nove repetições

Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si (Scott-knot, 5%)

CV(%) = 9,98

Espécies hospedeiras: ¹H. psittacorum x H. spathocircinata cv. Alan Carle, ²H. stricta cv. Tagami, ³H. wagneriana, ⁴H. chartacea cv. Sexy Pink, ⁵H. orthotricta cv. Eclipse Total

e menor agressividade (Tabela 1). Os isolados componentes do grupo de maior agressividade pertencem aos municípios de Goiana (F4 e F27), Paudalho (F8), Camaragibe (F11, F19 e F32), Ribeirão (F33), Rio Largo (F4), Marechal Deodoro (F17) e Paulista (F22). Os isolados pertencentes aos municípios de Rio Largo (F1, F21 e F29), Paulista (F2, F6 e F18), Camaragibe (F3, F12, F16 e F25), Goiana (F7 e F26) e Paripueira (F10) comportaram-se como de agressividade intermediária, representando o grupo com maior número de isolados, e por fim, os isolados de Goiana (F5 e F24), Boquim (F9), Paulista (F13), Camaragibe (F15 e F30), Cabo de Santo Agostinho (F28) e Rio Largo (F31) foram considerados menos agressivos. Com este resultado pôde-se verificar que não ocorreu correlação geográfica, onde isolados de uma mesma região apresentaram níveis de agressividade diferentes, fazendo parte de grupos distintos. Concordando com este resultado,

Tabela 2. Comparação de métodos de inoculação em *Heliconia psittacorum* cv. Alan Carle de *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense

Métodos de inoculação	Grau de infecção
Injeção (10 ml)	2,375 a
“Dipping” – 30 minutos	0,875 b
“Meia lua” (20 ml)	0,875 b
“Dipping” – 60 minutos	0 c
Testemunha	0 c

Médias de quatro repetições.

Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). Dados transformados em raiz quadrada (x + 0,5).

CV (%) = 17,73.

Waite (13) observou que 12 isolados de *F. oxysporum* f. sp. cubense oriundos de *H. caribaea* apresentaram variações quanto à agressividade em *H. librata* Griggs e *H. irassa* R.R. Smith e, posteriormente, em outro trabalho, Waite (14) verificou a variação de agressividade de 12 isolados de *F. oxysporum* f. sp. cubense de Honduras, Filipinas, Venezuela, Austrália, Jamaica, Costa Rica, Malásia e Tailândia quando inoculados nas cultivares de bananeira Gros Michel e Bluggoe e os sintomas observados variaram de leve a severo.

Estudos como estes, relacionados a ocorrência da doença, metodologia de inoculação e agressividade de isolados, são importantes diante do pouco conhecimento do patossistema *F. oxysporum* f.sp. cubense versus *Heliconia* spp.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bentley, S.; Pegg, K.G.; Moore, N.Y.; Davis, R.D.; Buddenhagen, I.W. Genetic variation among vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense analyzed by DNA fingerprinting. *Phytopathology*, Saint Paul, v.88, p.1283-1293, 1998.
- Cavalcanti, L.S.; Coêlho, R.S.B.; Perez, J.O. Utilização de dois métodos de inoculação na avaliação da resistência de cultivares e linhagens de feijoeiro a *Fusarium oxysporum* f. sp. phaseoli. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.32, p.1-5, 2002.
- Cordeiro, Z.J.M.; Dantas, J.L.L Rating bananas reaction to fusarium wilt in Brazil. *Proceedings, International Symposium on recent developments in banana cultivation technology*, Taiwan, p.85-88, 1993.
- Cordeiro, Z.J.M.; Matos, A.P.; Kimati, H. Doenças da bananeira. In: Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A. *Manual de Fitopatologia*. 4. ed., Piracicaba: Agronômica Ceres, 2005. v.2, p.99-117.
- Ito, M.F.; Mascarenhas, H.A.A.; Tanaka, M.A. De S.; Tanaka, R.T.; Ambrosano, G.M.B.; Muraoka, T. Métodos de inoculação de *Diaporthe phaseolorum* f. sp. meridionalis para avaliar o efeito de diferentes épocas de plantio e doses de potássio sobre o cancro da haste da soja. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v. 23, p. 213-216, 1997.
- Lins, S.R.O.; Coêlho, R.S.B. Ocorrência de doenças em plantas ornamentais tropicais no Estado de Pernambuco. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.29, p.332-335, 2004.
- Rodrigues, A.A.C.; Coêlho, R.S.B. Murcha de fusário do caupi: métodos de inoculação, reação de germoplasma e controle genético da resistência. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v. 30, p. 23-30, 2004.
- Santos, R.L.M.S.; Matos, A.P. de; Cabral, J.R.S. Avaliação da infecção com *Fusarium subglutinans* em diferentes tipos de folhas de abacaxizeiro. *Cruz das Almas*, v.13, n.1, p.1-6, 2001 Disponível em: <<http://www.magistra.ufba.br/publica/magist13/>>

- html>. Acesso em 4 dez. 2006.
9. Stover, R.H.; Waite, B.H. Studies on Fusarium wilt of bananas. VI Variability and the cultivar concept in *Fusarium oxysporum* f.sp. cubense. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, v.38, p.985-994, 1960.
 10. Tokeshi, H.; Galli, F. Variabilidade de *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici (Wr.) Sny. & Hans. em São Paulo. *Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz*, Piracicaba, v. 23, p. 195-209, 1966.
 11. Vakalounakis, D.J.; Fragkiadakis, G.A. Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* isolates from cucumber: differentiation by pathogenicity, vegetative compatibility, and RAPD fingerprinting. *Phytopathology*, Saint Paul, v. 89, p. 161-168, 1998.
 12. Waite, B.H. Inoculation studies and natural infection of banana varieties with races 1 and 2 of *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense. *Plant Disease Report*, Saint Paul, v.61, p.15-19, 1977.
 13. Waite, B.H. Fusarium wilt of Heliconia and its relation to Panama disease of bananas. *Phytopathology*, Saint Paul, v.52, p.287, 1962.
 14. Waite, B.H. Wilt of Heliconia spp. caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense race 3. *Tropical Agriculture*, Trinidad, v.40, p.299-305, 1963.
 15. Wang, B.; Dale, M.L.; Kochman, J.K. Studies on a pathogenicity assay for screening cotton germplasms for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. vasinfectum in the glasshouse. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, Adelaide, v.39, p.967-974, 1999.