

ESTUDO PRELIMINAR DA VARIABILIDADE DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* EM *Gossypium hirsutum*

PRELIMINARY STUDY OF VARIABILITY OF *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* IN *Gossypium hirsutum*.

Valdirene Aparecida Stabile SILVA¹; Fernando César JULIATTI²; Fernanda Cristina JULIATTI³

1. Pós-graduanda em Fitopatologia, Instituto de Ciências Agrárias, Núcleo de Fitopatologia, Universidade Federal de Uberlândia-UFU. valdirenesilva2000@yahoo.com.br; 2. Professor Doutor, Instituto de Ciências Agrárias, Núcleo de Fitopatologia-UFU. juliatti@ufu.br ;

3. Graduanda, Instituto de Ciências Agrárias-UFU.

RESUMO: Com o objetivo de estudar a variabilidade de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* no algodoeiro *Gossypium hirsutum*, foi instalado um experimento em estufa telada na Universidade Federal de Uberlândia, no período de outubro de 2002 a janeiro de 2003. Utilizou-se o delineamento de blocos casualizados com três repetições, sendo que foram testadas 15 cultivares frente a seis isolados de fusário. As avaliações constituíram da data do aparecimento do primeiro sintoma visível de murcha e, aos 50 dias, fez-se a medição do tamanho das plantas de algodão e o tamanho do escurecimento vascular, obtendo dessas medições a porcentagem de escurecimento vascular. Nesta mesma data o comportamento dos materiais foi avaliado por meio da utilização da escala proposta por McLeod, 1983, modificada para o presente ensaio. Foi observado que o isolado de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, obtido da cultivar Delta Pine Acala 90 em dezembro de 1998 foi o de maior agressividade, apresentando sintomas de murcha quatro dias após as inoculações. Com base nos resultados as cultivares Auburn 634 RNR, FiberMax 966, FiberMax 986 e EPAMIG 5 foram suscetíveis aos três isolados testados. A cultivar Coodetec 401 foi resistente aos três isolados de fusário. As demais cultivares apresentaram variação de resistência e suscetibilidade quanto aos isolados. Sugere-se as cultivares EPAMIG 5, BRS Antares, Delta Pine Acala 90, DeltaOpal, Liça e Coodetec 401, como uma série diferencial para raças de fusário no Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: Algodão. Isolados de *Fusarium*. Resistência a doenças.

INTRODUÇÃO

O algodão (*Gossypium hirsutum* L.) é uma malvacea originária das Américas que se expandiu para várias regiões do mundo e é considerada como uma planta de aproveitamento completo, dada sua utilidade e ampla diversidade de aplicações, sua fibra é a mais utilizada pelo homem (CARVALHO,1996).

O Algodoeiro é uma das culturas anuais mais importantes do Brasil, pelo seu valor econômico e social. No Brasil em 2003, foram colhidos cerca de 736.700 hectares, sendo a produtividade em torno de 2.960 Kg/ha, levando a produção a atingir um montante de 1.351.400 toneladas de algodão em caroço (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2004).

No Brasil, o algodão é atualmente um dos principais produtos de exploração agrícola da economia nacional. Todavia, a incessante expansão das áreas cultivadas com algodão, não foi acompanhada de um adequado manejo de doenças. Isso culminou em diversas perdas na produtividade, além de beneficiar a expansão de vários patógenos no território brasileiro, como é o caso do nematóide

Meloidogyne incognita e de seu complexo com o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* .

O êxito em uma lavoura algodoeira está diretamente relacionado a um conjunto de operações e processos, os quais devem estar funcionando de acordo com as necessidades de cada fase do processo produtivo. As mudanças no sistema de produção do algodão devem ser acompanhadas pelo constante monitoramento, adoção e adequação de tecnologias apropriadas, melhorando a qualidade das operações, propiciando alta rentabilidade, reduzindo o custo de produção e superando o desafio da substituição das atuais cultivares susceptíveis à doenças, por novas variedades com resistência múltipla a doenças (BELTRÃO, 1998).

Encontram-se registrados mais de 250 agentes causais de doenças no algodoeiro. Alguns desses patógenos são cosmopolitas e outros ocorrem apenas em certas regiões ou circunstâncias especiais. Da mesma forma, algumas dessas doenças são altamente destrutivas e outras não apresentam qualquer importância econômica (GRIDI-PAPP,1992). No Brasil, são 32 patógenos que causam problemas na cotonicultura, dentre esses patógenos, destacam-se o fitonematóide

Meloidogyne incognita (RUANO, 1997) e o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (GRIDI-PAPP, 1992).

A murcha de fusário, também conhecida como Fusariose, é causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, tendo sido descrita pela primeira vez em 1892 por Atkinson, no Alabama, EUA. Já naquela ocasião, o autor chamava a atenção para o aumento da gravidade da doença quando ocorriam infecções de *Fusarium* e do nematóide das galhas (ATKINSON, 1892; JULIATTI; RUANO, 1997; RUANO, 1984).

A primeira constatação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, no Brasil, foi feita por Krug, em 1935, em material da variedade "Texas" proveniente da Estação Experimental da Alagoinha, Paraíba (KRUG, 1936). Em 1938 a murcha foi registrada em Pernambuco (DESLANDES, 1938). Como a identificação de raças é baseada em diferentes gêneros e espécies de plantas (KIMATI et al., 1997), urge, desenvolver um grupo de cultivares diferenciais de algodoeiro dentro da espécie *Gossypium hirsutum* para estabelecer a diferenciação de raças de fusário na cultura.

Para o crescimento da cotonicultura no Brasil, é de grande necessidade atual o processo de identificação de cultivares mais resistentes a doenças, que hoje é um dos grandes problemas do decréscimo da produtividade.

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de estudar a variabilidade de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* no algodoeiro (*Gossypium hirsutum*).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido durante o período de outubro 2002 a janeiro 2003, em uma estufa telada, na área experimental do Instituto de Ciências Agrárias no Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia. Neste trabalho foram utilizados 15 genótipos de *Gossypium hirsutum*: Auburn 634 RNR, IAC 20-233, Coodetc 401, EPAMIG 4, FiberMax 966, FiberMax 986, ITA 90, DeltaOpal, CNPA-Acala 1, BRS Antares, Makina, Fabrika, Delta Pine Acala 90, EPAMIG 5 e Liça.

Adotou-se o delineamento de blocos casualizado em esquema fatorial com seis isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, quinze cultivares de algodão e três repetições. Cada unidade experimental foi constituída de um vaso com três plantas.

Os isolados utilizados no estudo, pertencem a coleção da Clínica Fitopatológica do ICIAG-UFU. Todos isolados foram identificados como *Fusarium oxysporum*, variando apenas os hospedeiros: I-1, I-2 e I-3 tem como hospedeiro o algodão; I-4 banana; I-5 alho e I-6 tomate. Todos estavam armazenados pelo método de preservação em terriço, solo e areia 1:1 sob condição de geladeira a 5°C.

O vaso utilizado com capacidade para 3 L recebeu a mistura 1:2 de solo/areia, fumigada com brometo de metila, na dose de 150 mL/cm³ de solo. Cinco sementes de algodão foram semeadas diretamente no vaso, mantendo-se após o desbaste, 3 plantas por vaso.

Os isolados, foram multiplicados em meio de cultura BDA com a adição de uma alíquota do terriço. Após 12 dias, realizou-se a repicagem do fungo retirando cinco círculos de diâmetro de 0,7 cm com micélios e esporos do fungo. Estes círculos foram colocados em lados opostos, em placas de Petri contendo o meio de cultura, (JULIATTI; CÂNDIDO, 2002) a base de alimento infantil (Nestlé Brasil) composto de extrato de carne, hortaliças e cereais (100g), 2g de CaCO₃, 20g de ágar, 50 mg de cloranfenicol, 1 litro de água destilada com 4 ml do complexo vitamínico Nutri-Ped. As placas de Petri com o fungo em multiplicação permaneceram armazenadas por 26 dias na câmara de incubação no Laboratório de Fitopatologia em temperatura de 18-22°C e iluminação por 12 horas/dia. Ao fim desse período, o meio foi raspado superficialmente com uma espátula e o material retirado contendo micélio e esporos foi diluído em água destilada, e a concentração de 5x10⁴ conídios/mL foi obtida após calibração do inóculo e para tanto usou-se a câmara de Neubauer. A mistura foi homogeneizada com borbulhamento toda vez que foi feita a pipetagem para inocular o isolado no substrato dos vasos.

As inoculações foram feitas nas plântulas que apresentaram a expansão da segunda folha verdadeira. O volume de 5 mL do inóculo foi colocado em cada um dos quatro orifícios feitos no solo ao redor do caule. O furo apresentava 0,5 cm de diâmetro e 6 cm de profundidade.

As avaliações iniciaram com a anotação do dia do aparecimento do primeiro sintoma visível de murcha. Aos 50 dias, fez-se a medição do tamanho das plantas de algodão e o tamanho do escurecimento vascular, obtendo dessas medições a porcentagem de escurecimento vascular. Nesta mesma data, o comportamento dos materiais foi avaliado por meio da escala proposta por McLeod;

Witcher; Epps 1983, modificada para o presente ensaio.

1 -Plantas sem qualquer sintoma de murcha e sem escurecimento vascular;

2 -Ausência de murcha e presença de escurecimento vascular;

3 -Presença de murcha em apenas uma folha verdadeira e escurecimento vascular;

4 -Presença de murcha em mais de uma folha verdadeira e escurecimento vascular;

5 -Planta morta ou totalmente desfolhada.

As reações 1 e 2 foram consideradas como de resistência e 3, 4 e 5 como de suscetibilidade por McLeod, mas o presente trabalho considerou as reações com nota 1 como uma

reação de resistência e as reações 2, 3, 4 e 5 como de suscetibilidade. De posse das reações foi estabelecida uma série diferencial para raças de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* nas cultivares de algodoeiro testadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O isolado *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (isolado I), de algodoeiro Delta Pine Acala 90, foi o que apresentou maior nota (Tabela 1). As plantas infectadas com este isolado apresentaram sintomas de murcha quatro dias após a inoculação.

Tabela 1. Valores médios de notas da escala de McLeod para reação de algodoeiro aos seis isolados de *Fusarium*.

ISOLADOS (Hospedeiro original)	NOTAS
I1 (algodão)	2,0 a
I2 (algodão)	1,5 b
I3 (algodão)	1,3 bc
I4 (banana)	1,0 c
I5 (alho)	1,0 c
I6 (tomate)	1,0 c

Notas seguidas por uma letra comum não diferem significativamente pelo teste de Tukey, a 0,05 % de probabilidade.

A partir das notas dadas utilizando a escala segundo McLeod, Witcher e Epps (1983) modificada, foi possível fazer uma proposta do estabelecimento de cultivares diferenciais de algodoeiro dentro da espécie *Gossypium hirsutum*

para raças de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Tabela 2), melhorando desta forma a identificação de raças baseada em diferentes gêneros e espécies de plantas feita por Kimati et al. (1997).

Tabela 2. Cultivares de *Gossypium hirsutum* diferenciadoras para raças de fusário do algodoeiro.

CULTIVARES	ISOLADOS		
	I ^a	II ^b	III ^c
EPAMIG 5 ¹	S	S	S
BRS Antares	S	R	R
Delta Pine Acala 90 ²	S	S	R
DeltaOpal ³	S	R	S
Liça	R	R	S
Coodetec 401	R	R	R

^a*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*-algodão- Delta Pine Acala 90. ^b*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*-algodão- Sikala-32. ^c*Fusarium Oxysporum* f. sp. *vasinfectum*-algodão- Sikala-32. ¹ FiberMax 986, FiberMax 966, Auburn 634 RNR apresentaram mesmo tipo de reação. ² EPAMIG 4 com reação similar. ³ Makina, Fabrica, IAC 20-233, CNPA Acala 1, ITA 90 apresentaram igual reação frente aos isolados. R- Cultivares resistentes. S- Cultivares suscetíveis

Assigbetse et al. (1994), utilizaram a técnica do RAPD para diferenciar raças de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* em algodão. Cinco cultivares de três espécies de

algodão foram usadas para diferenciar 46 isolados de *Fusarium* e três raças foram obtidas. Na presente proposta foram estudadas as reações de três isolados provenientes do algodoeiro, que

apresentaram reação diferenciada às cultivares de algodoeiro da espécie *Gossypium hirsutum*. Se os referidos autores tivessem utilizados cultivares de algodão de uma única espécie, o resultado poderia ser outro. Presume-se que a análise molecular não seja suficiente para o estabelecimento de raças, se esta não for acompanhada de testes de inoculação em cultivares de uma mesma espécie.

Baseado na escala de notas, as cultivares avaliadas foram classificadas como resistentes ou suscetíveis quanto aos diferentes isolados do patógeno. As cultivares Makina, Fabrica, IAC 20-233, CNPA Acala 1, ITA 90 e DeltaOpal foram todas suscetíveis aos isolados I e III, e resistentes ao isolado II. Isto evidencia a existência de níveis diferentes de agressividade entre isolados. As cultivares FiberMax 986, FiberMax 966, Auburn 634 RNR e EPAMIG 5 foram suscetíveis a todos os isolados. As cultivares Delta Pine Acala 90 e EPAMIG 4 foram resistentes apenas ao isolado III. A cultivar BRS Antares apresentou suscetibilidade somente ao isolado I e a cv. Liça ao isolado III. A cultivar Coodetec 401 apresentou resistência a todos os isolados testados. A reação destas cultivares quanto aos isolados de fusário, demonstra que são prováveis diferenciadoras de raças, pois se comportam de maneira diferente em relação aos

isolados, nota-se, desta forma, diferenças genéticas entre os isolados, estando de acordo com Bibanco, Cia e Pizzinato (2003), onde constatou-se a existência de variabilidade genética entre isolados de fusário do algodoeiro.

O presente trabalho evidenciou diferenças na agressividade de três isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* em regiões próximas dentro do território brasileiro, evidenciando a variabilidade genética desse patógeno em nosso País, mostrando-se assim a importância de trabalhos sobre a evolução de raças de Fusário de diferentes locais do mundo, elaborado por Skovgaard et al. (2001).

Cassetari (2003), utilizando apenas um isolado de fusário, verificou que as cultivares DeltaOpal e FiberMax são resistentes e as cultivares ITA 90 e Makina são suscetíveis. Porém, utilizando estas mesmas cultivares, submetidas a presença de três isolados diferentes, os resultados foram diferentes, constatada diferenças na interação entre patógeno x hospedeiro.

Os valores de porcentagem de escurecimento vascular estão apresentados na Figura 1 e Tabela 3.

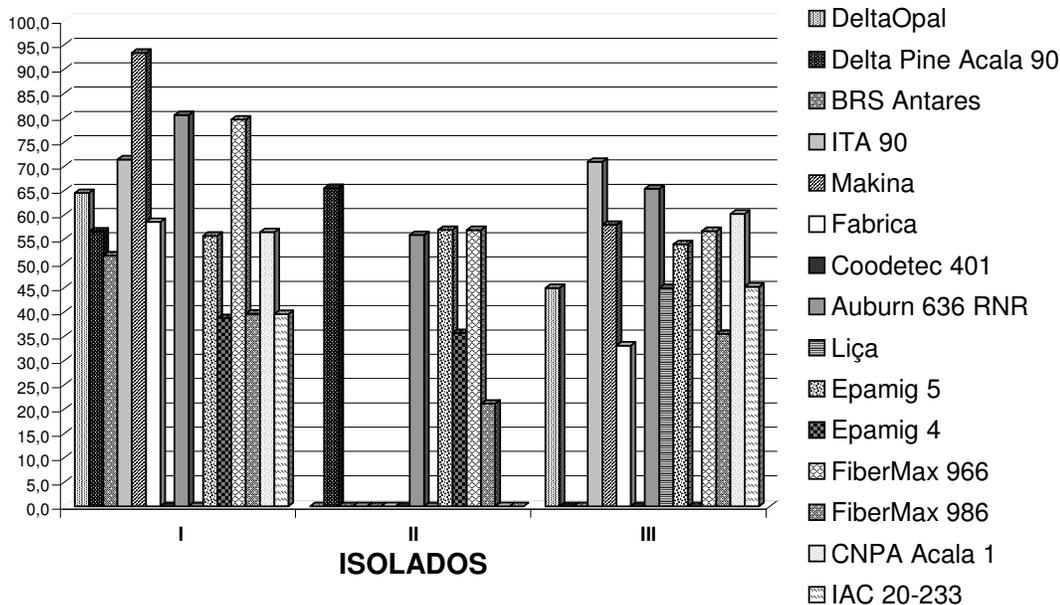


Figura 1. Porcentagem de escurecimento vascular em diferentes cultivares de algodoeiro para três isolados de *Fusarium*.

Tabela 3. Valores em porcentagem do escurecimento vascular nas cultivares testadas.

Cultivares	Isolado I	Isolado II	Isolado III
DeltaOpal	64,5	0,0	45,0
Delta Pine Acala 90	56,6	65,5	0,0

Continua...

BRS Antares	51,7	0,0	0,0
ITA 90	71,4	0,0	70,9
Makina	93,3	0,0	58,0
Fabrica	58,6	0,0	33,1
Coodetec 401	0,0	0,0	0,0
Auburn 636 RNR	80,6	55,9	65,4
Liça	0,0	0,0	45,0
Epamig 5	55,7	56,9	54,0
Epamig 4	38,8	35,7	0,0
FiberMax 966	79,6	56,9	56,7
FiberMax 986	39,6	21,2	35,5
CNPA Acala 1	56,5	0,0	60,2
IAC 20-233	39,6	0,0	45,2

Conforme o estabelecido por Bergamin Filho, Kimati e Amorim (1995), nota-se que algumas cultivares apresentaram resistência horizontal e vertical. Outras apresentam apenas resistência vertical ou horizontal. O isolado I sempre foi o mais agressivo para as cultivares DeltaOpal, ITA 90, Makina, Fabrica, BRS Auburn 636 RNR, FiberMax 966, FiberMax 986, embora existam diferenças evidentes de níveis de resistência horizontal parcial entre as cultivares. Da mesma forma, para qualquer isolado que se escolha, as cultivares não se alteram quanto a ordem de resistência. A cultivar FiberMax 986 foi a de maior nível de resistência horizontal. Já a resistência vertical foi observada apenas na cultivar Coodetec 401.

Deve ser ressaltado que as plantas inoculadas com isolados provenientes de outros hospedeiros como banana, alho e tomate não

apresentaram infecção no algodoeiro comprovando a especificidade do patógeno.

CONCLUSÕES

- As cultivares Auburn 634 RNR, FiberMax 966, FiberMax 986 e EPAMIG 5 foram suscetíveis aos três isolados testados. A cultivar Coodetec 401 foi resistente aos três isolados de fusário. As demais cultivares apresentaram variação de resistência e suscetibilidade quanto aos isolados.
- Sugere-se as cultivares EPAMIG 5, BRS Antares, Delta Pine Acala 90, DeltaOpal, Liça e Coodetec 401, como uma série diferencial para raças de fusário no Brasil.

ABSTRAT: With objective of this study variability of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* in the *Gossypium hirsutum*, was installed an experiment in greenhouse, in Uberlândia (MG), with three replicates in a randomized block design, during october/2002 to january/2003. The evaluations had constituted of the date of the appearance of the first visible symptom of withering and, to the 50 days, it became measurement of the size of the cotton plants and the size of the vascular blackout, getting of these measurements the percentage of vascular blackout. The varieties had been evaluated using the modified scale proposal for McLeod, 1983. With the evaluation it was evidenced that the isolated *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, removed of cotton Delta Pine Acala 90 in December of 1998 was of the bigger aggressiveness, presenting symptoms of withering four days after the inoculations. On the basis of the results to cultivate them Auburn 634 RNR, FiberMax 966, FiberMax 986 and EPAMIG 5 susceptible to the three isolated ones had been tested. To cultivate Coodetec 401 it was resistant to the three isolated ones of *Fusarium*. Excessively to cultivate had presented variation of resistance and susceptibility how much to the isolated ones. Cultivating EPAMIG 5, BRS Antares, Delta Pine Acala 90, DeltaOpal, Liça and Coodetec 401 are suggested, as a distinguishing series for races of *Fusarium* in Brazil.

KEYWORDS: Cotton. Isolated of *Fusarium*. Disease resistance.

REFERÊNCIAS

ASSIGBETSE, K. B.; FERNANDEZ, D.; DUBOIS, M. P.; GEIGER, J. P. Differentiation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* races on cotton by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Phytopathology*, v. 84, n. 6, p. 622-626, 1994.

- ATKINSON, G. F. Some diseases of cotton. **Alabama Agric. Exp. Station Bull.**, 41:3-65. 1892.
- BELTRÃO, N. E. de M. **Fibras e óleo**. Campina Grande: Embrapa, 1998 (Informativo, 27).
- BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3ª ed.. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1.
- BIBANCO, K. R.P.; CIA, E.; PIZZINATTO, M. A. Identificação de variabilidade genética entre os isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* do algodoeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 36., 2003, Uberlândia. **Resumos...** Brasília: Sociedade Brasileira Fitopatologia, 2003. p. 267.
- CARVALHO, P. P. **Manual do algodoeiro**. Lisboa: Instituto de Investigação Científica Tropical, 1996. 282 p.
- CASSETARI, D. N. Controle de fungos da parte aérea do algodão. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 36., 2003, Uberlândia. **Palestra...** Brasília: Sociedade Brasileira Fitopatologia, 2003. p. 169-172.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Anuário Brasileiro do Algodão**. Santa Cruz do Sul, 2004.
- DESLANDES, J. A. A "murcha" ou "queima" do algodoeiro. **Revista de Agricultura**, 13(10,11,12): 511-514, 1938.
- GRIDI-PAPP, I. L. **Manual do Produtor de Algodão**. São Paulo: Bolsa de Mercadorias & Futuros, 1992. 158p.
- JULIATTI, F. C.; CANDIDO, J. A. **Efeitos dos diferentes meios de cultura no crescimento do fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *Vasinfectum***, Uberlândia, 2002. (Apostila)
- JULIATTI, F. C.; RUANO, O. **Controle de doenças. Doenças causadas por fungos e bactérias**. In : VALE, F.X.R. & ZAMBOLIM L. Controle de doenças de plantas .Grandes Culturas. Vol. 2. UFV, Departamento de Fitopatologia, Brasília, Distrito Federal : Ministério da agricultura e do abastecimento, 1997, p. 555-570.
- KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**, 3ª ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997.
- KRUG, H. P. *Fusarium* como causador da murcha do algodoeiro no Brasil. **Rodriguesia**, n.2, p. 319-321, 1936.
- McLEOD, J. M.; WITCHER, W.; EPPS, W. M. Resistance of okra plant introductions to root-knot nematode and *Fusarium* wilt. **Hortscience**, v. 18, n..2, p. 249-250, 1983.
- RUANO, O. **Resistência do algodoeiro (*Gossypium spp.*) a *Meloidogyne incognita* (kofoid & White) Chitwood, *Fusarium oxyporum* f. sp. *Vasinfectum* (ATK) Snyder & Hanson e a associação desses organismos**. 1984. 19 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1984.
- RUANO, O. **Controle de doenças causadas por nematóides**. Vol. 2. UFV, Departamento de Fitopatologia, Brasília, Distrito Federal : Ministério da agricultura e do abastecimento, 1997, p. 583-610.
- SKOVGAARD, K.; NIRENBERG, H. I., DONNELL, K.; ROSENDAHL, S. Evolution of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* races inferred from multigene genealogies. **Phytopathology**, v. 91, n. 12, p. 1231-1237, 2001.