

ZONEAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE *Fusarium* spp. CAUSADORES DE PODRIDÃO DE RAÍZES EM PLANTIOS DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) NA REGIÃO DO VALE DO TAQUARÍ, RSZONING AND IDENTIFICATION OF *Fusarium* spp. CAUSING ROOT ROT IN ERVA-MATE PLANTINGS (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) IN THE VALLEY REGION OF TAQUARI, RSIgor Poletto¹ Marlove Fatima Brião Muniz² Denise Ester Ceconi³ Delmar Santin⁴
Maria Nevis Deconto Weber⁵ Elena Blume²**RESUMO**

Em 2004, foram constatados sintomas da doença podridão-de-raízes em ervais nos municípios da região alta do Vale do Taquari, RS. Com o auxílio de técnicos da EMATER, fez-se um levantamento dos municípios que possuíam ervais com sintomas. Em 10% dos ervais afetados, coletaram-se amostras de raízes que foram enviadas para análise no Laboratório de Fitopatologia pertencente ao Departamento de Defesa Sanitária/CCR/UFSM. Foram isoladas e identificadas cinco diferentes espécies do fungo *Fusarium* associadas à doença: *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium decemcellulare*, *Fusarium tabacinum* e *Fusarium tricinctum*. Todas as espécies se mostraram patogênicas quando inoculadas em plantas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). No momento da coleta das amostras, levantaram-se informações sobre o manejo do erval e discutiu-se a similaridade entre os sintomas apresentados na erva-mate e em culturas agrônomicas bem como hipóteses sobre a origem do inóculo de *Fusarium* spp. que proporcionou a contaminação dos ervais.

Palavras-chave: *Fusarium* spp.; fitopatologia; *Ilex paraguariensis*; patogenicidade.

ABSTRACT

In 2004, symptoms of root rot disease were observed in *erva-mate* plantings in high areas of Region Taquari Valley, RS. With the help of EMATER, the municipal districts presenting plantings with symptoms were surveyed. In 10% of the affected plantings, root samples were collected and sent for analysis at the Plant Disease Laboratory at the Department of Plant Protection/CCR/UFSM. Five different species of fungus *Fusarium* associated with the disease were isolated and identified: *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium decemcellulare*, *Fusarium tabacinum* and *Fusarium tricinctum*. All species were pathogenic when inoculated in *erva-mate* plants (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). At the moment of sampling, information about the management of the *erva-mate* plantings was obtained and the similarity between the symptoms presented in *erva-mate* and in agronomic crops discussed, as well as hypotheses on the origin of the inoculum of *Fusarium* spp. that infected the *erva-mate* plantings.

Key words: *Fusarium* spp.; phytopathology; *Ilex paraguariensis*; pathogenicity.

INTRODUÇÃO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) é uma espécie florestal cultivada no sul do Brasil e, em alguns municípios, é a principal atividade econômica. Sua ocorrência natural é restrita ao Brasil, Paraguai e Argentina, abrangendo cerca de 540.000 Km². No Brasil, sua área está dispersa sobretudo nos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul.

1. Engenheiro Florestal, Departamento de Defesa Fitossanitária, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Campus Universitário, CEP: 97105-970, Santa Maria (RS). Bolsista FAPERGS – BIC igorpoletto@mail.ufsm.br
2. Engenheira Agrônoma, Dr^a, Professora Adjunta do Departamento de Defesa Fitossanitária, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Campus Universitário, CEP: 97105-970, Santa Maria (RS) marlove@smail.ufsm.br
3. Engenheira Florestal, Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa, Campus Universitário, CEP: 97105-970, Santa Maria (RS). Bolsista CNPq. deconi@mail.ufsm.br
4. Engenheiro Florestal, Departamento de Defesa Fitossanitária, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Campus Universitário, CEP: 97105-970, Santa Maria (RS). delmarl@bol.ufsm.br
5. Farmacêutica, MSc., Técnica Administrativa do Departamento de Defesa Fitossanitária, Universidade Federal de Santa Maria, Campus Universitário, CEP: 97105-970, Santa Maria (RS).

Recebido para publicação em 27/09/2005 e aceito em 17/02/2006.

A Região alta do Vale do Taquari, no estado do Rio Grande do Sul é formada pelos municípios de Arvorezinha, Anta Gorda, Ilópolis, Putinga, Relvado, Doutor Ricardo, São José do Eral e Fontoura Xavier. São municípios essencialmente agrícolas, constituídos por pequenas propriedades rurais, com destaque para a cultura da erva-mate que é a principal fonte de renda de alguns municípios. A erva-mate é cultivada especialmente, na forma consorciada com culturas agrícolas como milho, feijão, soja e fumo nos primeiros anos do eral e nos demais anos, na forma homogênea. Alguns ervais são nativos cultivados em meio às matas de araucária (*Araucaria angustifolia* (Bert.) O.Ktze.), típica da região.

Em meados de 1996, os agricultores perceberam que algumas erva-mates estagnavam seu crescimento, ficavam debilitadas e, posteriormente, morriam. Essa doença ficou sem diagnóstico por muito tempo, atingindo áreas maiores a cada ano. Descrita pela primeira vez no estado do Paraná por Grigoletti e Auer (2001), sendo denominada podridão-de-raízes da erva-mate, seus sintomas são amarelamento e perda das folhas, apodrecimento das raízes, estagnação de crescimento e, em estados mais avançados, morte da planta, causada pelo fungo *Fusarium* sp. Acreditava-se que a origem da doença se dava a partindo de mudas já contaminadas em viveiro, pois ocorria em ervais mais jovens.

Os principais gêneros de fungos associados à podridão de raízes de erva-mate em sementeiras ou em mudas já transplantadas nas embalagens foram *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp. e *Pythium* sp. Nas sementeiras e em mudas já transplantadas, os sintomas ocorriam em reboleiras ou em plântulas esparsas e, em ambos os casos, estão relacionados ao excesso de umidade. No sistema radicular, observava-se um crescimento reduzido com escurecimento e apodrecimento das raízes (Andrade 2001).

De acordo com Burgess *et al.* (1981), a escolha do procedimento para o isolamento de *Fusarium* depende da natureza da planta-prova, do número de amostras e das espécies de *Fusarium* envolvidas. Espécies, sobretudo as de crescimento lento, podem ser difíceis de isolar diretamente do tecido necrosado que é colonizado abundantemente por outros fungos e bactérias. Porém, para essas espécies, às vezes, são usadas combinações de técnicas e iscas para serem isoladas. O isolamento de espécies de *Fusarium* em tecidos de plantas doentes em meio Ágar é um dos métodos mais comuns de isolamento. O tecido selecionado deve ser típico do material doente em estudo. Locais do tecido amostrado que possuem necrose avançada devem ser evitados, porque esse tecido está provavelmente colonizado com outros organismos secundários. As amostras de tecido devem ser tratadas com um desinfetante de superfície para reduzir os números de organismos secundários que podem crescer no meio e aumentar as chances de isolamento do organismo primário. Hipoclorito de sódio é um desinfetante químico satisfatório para usar na maioria dos tecidos (Nelson *et al.*, 1983).

Segundo Booth (1971), áreas necróticas seguidas de murcha, cancos e pontas dos galhos mortos formam freqüentemente micélio, conidióforo ou esporodóquio que podem ser isolados diretamente do material. Espécies de *Fusarium*, que penetram no tecido vascular de raízes e talos, podem ser mais facilmente isolados de superfícies esterilizadas por cloreto de mercúrio ou hipoclorito de sódio por 1-5 min para uma pequena porção de material. Depois de esterilizada, a superfície do material é lavada, um fragmento pequeno é fatiado, e retirada uma porção em cada extremidade, então a parte central do fragmento é colocada em uma placa com Ágar. Depois de 24-36 h a 25°C, o micélio de *Fusarium* deverá ter crescido suficientemente para ser re-isolado. Entretanto, quando a necessidade primária é produzir frutificações para identificação, o meio de Ágar é inadequado e recomenda-se a utilização de um meio “pobre” ou pouco nutritivo.

O gênero *Fusarium* tem ampla distribuição geográfica, ocorrendo em praticamente todos os ambientes, é classificado reino *Eumycota*, divisão *Ascomycota*, classe *Euascomycetes*, ordem *Hypocreales*, família *Hypocreaceae* De Hoog *et al.* (2000) *apud* Godoy e Colombo (2004), incluindo espécies que produzem macroconídios hialinos, geralmente septados, caracterizados por possuírem as células basal e apical distintas, que são de grande importância na taxonomia das espécies. Os microconídios também com diferentes formas e os clamidósporos podem estar presentes ou ausentes. Espécies de *Fusarium* esporulam, no meio folha-de-cravo-ágar (FCA) em seis a dez dias, apresentam conídios com formas uniformes e nítidas o que não acontece no meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA). Os macroconídios são formados em esporodóquios que usualmente se desenvolvem sobre os pedaços de folhas de cravo, o que é importante na identificação das espécies, enquanto que os microconídios se formam nas hifas sobre o Ágar. O modo de

formação dos microconídios, a presença de cadeias e a formação de clamidósporos são importantes na diferenciação entre espécies (Ventura, 1999; Nelson *et al.*, 1981; Booth, 1971).

Para Booth (1971), a morfologia dos esporos é a melhor característica para a identificação de *Fusarium*. Quando microconídios são formados em cadeias, é facilmente possível observar colocando uma placa de Petri aberta debaixo da lente de um microscópio de baixa magnitude. *Fusarium moniliforme* e *Fusarium decemcellulare* são espécies que formam microconídios em cadeias, a presença de cadeias de conídios é um método simples e útil para a separação de *Fusarium moniliforme* de *Fusarium oxysporum*, por exemplo.

O *Fusarium* é um importante componente da microflora em todo o mundo. A enorme quantidade de espécies pertencentes ao mesmo gênero mostra a grande quantidade de habitats e em que pode sobreviver. Dentro de cada espécie de *Fusarium* pode haver ainda uma subdivisão ou *formae speciales* patogênicas ou não-patogênicas, ambas abrigadas em solos naturais ou cultivados, onde podem permanecer por longo tempo sob a forma saprofítica, sobrevivendo no material orgânico do solo (Edel *et al.*, 1997).

O objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento dos municípios que possuíam sintomas da doença da podridão-de-raízes da erva-mate na região do Alto Vale do Taquari, RS e identificar quais espécies do gênero *Fusarium* estariam envolvidas, e relatar informações sobre a etiologia da doença.

MATERIAIS E MÉTODOS

Características e localização da área de estudo

A região em estudo localiza-se na parte alta do Vale do Taquari, RS, localizada na Encosta Inferior do Nordeste, com altitudes variando de 200 a 800 m. O relevo é ondulado a montanhoso (Brasil, 1973). Em relevo mais acidentado, predominam os Neossolos Litólicos e Chernossolos Argilúvicos. Onde o relevo é mais suave, predominam Argissolos Vermelhos e Nitossolos Vermelhos (Streck *et al.*, 2002). O clima, segundo a classificação climática de Köpen, é Cfa, subtropical, com temperatura média do mês mais frio compreendida entre 3° e 18°C e temperatura média do mês mais quente superior a 22°C. A precipitação média anual é de 1800 mm (Moreno, 1961).

Amostragem e coleta do material

Em levantamento prévio, realizado em conjunto com técnicos da EMATER (Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Rio Grande do Sul), na região dos municípios do Alto vale do Taquari, RS, foram identificados os ervais que apresentavam sintomas da doença. Contatou-se então que cerca de 30% do total dos ervais de quatro municípios, Anta Gorda, Arvorezinha, Ilópolis e Putinga possuíam algum tipo de sintoma e destes, foram selecionadas aleatoriamente 10% das propriedades em cada município, onde foram coletadas amostras de solo e raízes das erveiras.

Em cada erval amostrado, foram arrancadas três erveiras, tendo-se o cuidado de retirar o máximo de raízes e destas, foram coletadas dez amostras de diversas posições do sistema radicular, com cerca de 5,0 cm cada. As amostras foram embaladas em sacos plásticos, etiquetados e conduzidas ao laboratório. Também, foi elaborado e aplicado um questionário para coleta de informações complementares, como: idade do erval, cultura antecedente ou atualmente consorciada e quando foram detectados os primeiros sintomas.

Análise laboratorial

No laboratório de Fitopatologia do Departamento de Defesa Fitossanitária/CCR/UFSM, as amostras foram lavadas em água corrente, desinfetadas com hipoclorito de sódio a 1% e lavadas duas vezes em água destilada esterilizada. Após, foram transferidas para caixas “gerbox”, colocadas em câmara úmida, incubadas a 25°C e mantidas sob fotoperíodo de 12 horas. Aos 4 dias, foram examinadas com auxílio de microscópio estereoscópico. Porções do micélio desenvolvido foram transferidas com auxílio de uma agulha para placas de Petri contendo o meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) e incubadas a 25°C sob fotoperíodo de 12 horas. Cada colônia de fungo desenvolvida em BDA foi purificada conforme a técnica de cultura monospórica descrita por Fernandes (1993).

Seguindo a metodologia descrita por Ventura (2000), esporos de cada colônia purificada foram repicados para três placas de Petri com meio de cultura BDA e incubadas a 25°C com fotoperíodo de 12 horas. Após 72 horas, foram medidos os diâmetros das colônias desenvolvidas. Porções dessas colônias

também foram transferidas para placas de Petri com meio de cultura ágar-água (AA) e folhas de cravo (FCA). Depois de dez dias, algumas folhas de cravo foram transferidas para lâminas e examinadas ao microscópio óptico bem como diretamente nas placas. A identificação das espécies de *Fusarium* foi feita seguindo a chave de classificação de Ventura (2000) e descrições feitas por Gerlach e Nirenberg (1982).

Testes de patogenicidade

Para o teste de patogenicidade, plantas de erva-mate com aproximadamente 1 ano de idade foram cultivadas em sacos plásticos. Colônias puras de *Fusarium* foram cultivadas em meio BDA por 15 dias. As colônias de *Fusarium* desenvolvidas em BDA foram seccionadas em porções de 1cm² e inoculadas quatro porções, dispostas em cruz, enterrando-as logo abaixo da superfície do solo, junto às raízes, conforme Figura 1. Cada espécie identificada foi inoculada em quatro plantas, estas foram mantidas em viveiro com temperatura ambiente e sombreamento de 30% e umidade constante.



FIGURA 1: Inoculação de *Fusarium* spp. em plantas de erva-mate.

FIGURE 1: *Fusarium* spp. inoculation in the erva-mate.

A incidência e severidade de cada espécie de *Fusarium* em erva-mate foram avaliadas semanalmente, atribuindo-se as seguintes notas para o grau de severidade do(s) sintoma(s), conforme Tabela 1. A parte aérea da planta foi analisada visualmente a cada semana, e os sintomas foram anotados.

TABELA 1: Notas atribuídas aos graus de severidade dos sintomas da doença de podridão-de-raízes de erva-mate.

TABLE 1: Mark attributed to the degrees of the symptoms severity of erva-mate root rot disease.

Notas	Gráus de severidade
0	Nenhum sintoma
1	até 20%
2	20 a 40%
3	40 a 60%
4	60 a 80%
5	80 a 100%

Aos 180 dias, as plantas foram arrancadas e processadas conforme a metodologia anterior no item “análise laboratorial”. Quando as plantas recebiam nota 5 pelo grau de sintoma eram arrancadas e analisadas antecipadamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sintomatologia da doença

Na grande maioria das vezes, os sintomas se apresentavam em reboleiras de tamanho variável, localizadas no meio do erval, envolvendo de cinco até duzentas árvores. Em alguns casos, erveiras mortas ou com sintomas apareciam espalhadas por todo erval. As árvores inspecionadas apresentaram sintomas de amarelamento das folhas, estagnação do crescimento e queda excessiva das folhas mais velhas, morte parcial (de alguns galhos da planta) e em casos mais adiantados da doença, morte total da planta (Figura 2).



FIGURA 2: Planta de erva-mate com seis anos atacada por *Fusarium* sp. A) galhos secos.

FIGURE 2: A six-year-old *erva-mate* plant attacked by *Fusarium* sp. A) dry branches.

As raízes, superficiais e profundas tinham apodrecimento e/ou manchas azuladas na superfície. Em casos mais avançados da doença, onde a planta se encontrava morta ou quase-morta, se desenvolviam estruturas constituídas de micélio e conídios do patógeno (Figura 3).

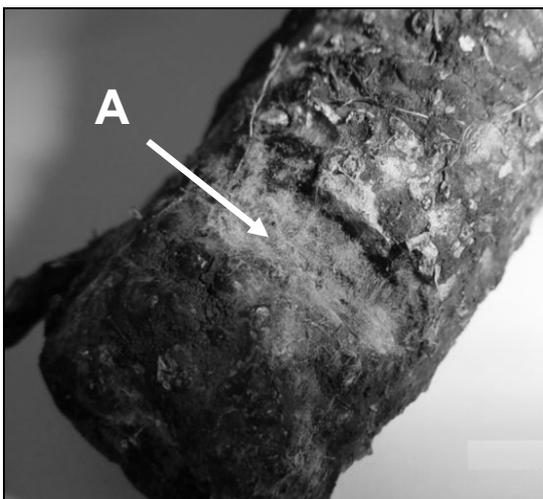


FIGURA 3: Raiz atacada por *Fusarium* sp. A) micélio desenvolvido no ferimento da casca.

FIGURE 3: Root attacked by *Fusarium* sp. A) mycelium developed in the wound of the peel.

Verificou-se que, em 35% dos ervais, os primeiros sintomas foram observados a cerca de dois a cinco anos; em 57% os sintomas apareceram aos seis a nove anos e em 8% dos ervais, há mais de nove anos. Porém, a partir do ano de 1999, a doença se tornou mais severa em todos os municípios com sintomas constatados nos ervais de três anos, até os mais velhos com mais de 10 anos.

Zoneamento e identificação das espécies de *Fusarium*

Nas avaliações realizadas em quatro municípios, identificaram-se cinco espécies do gênero *Fusarium*, predominando *Fusarium oxysporum* Schlecht. e *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., presentes em todos os municípios amostrados. *Fusarium tricinctum* (Corda) Sacc. foi encontrado nos municípios de Anta Gorda e Putinga. *Fusarium decemcellulare* Brick no município de Anta Gorda e *Fusarium tabacinum* (Beyma) W. Gams somente no município de Putinga (Tabela 2).

TABELA 2: Espécies de *Fusarium* encontradas associadas à podridão de raízes da erva-mate nos municípios da região alta do Vale do Taquari, RS.

TABLE 2: *Fusarium* species found associated with root rot of *erva-mate* in the municipal districts of high area of Valle do Taquari, RS.

Espécies	Municípios			
	Putinga	Arvorezinha	Ilópolis	Anta Gorda
<i>Fusarium solani</i>	X	X	X	X
<i>Fusarium oxysporum</i>	X	X	X	X
<i>Fusarium tabacinum</i>	X			
<i>Fusarium decemcellulare</i>				X
<i>Fusarium tricinctum</i>	X			X

Em que: X = Município em que a espécie foi encontrada.

Fusarium solani e *Fusarium oxysporum* são espécies que possuem mais de 79 *formae speciales* e entre as formas não-patogênicas, a variabilidade é ainda maior (Armstrong e Armstrong, 1981). No entanto, são muito conhecidas por serem causadores de doenças relacionadas a infecções do sistema radicular, sobretudo em culturas de feijão e soja.

Fusarium oxysporum é conhecido em todo o Brasil e em outros países, por ser agente causal do amarelamento-de-fusarium em plantações de feijão. O fungo penetra no sistema radicular, causando descoloração dos vasos. O principal sintoma é o amarelamento ascendente das folhas inferiores para as superiores. A doença pode causar redução do crescimento e nanismo, e se mais severa, a mortalidade da planta. Sob condições de umidade elevada, desenvolvem-se sobre o caule, estruturas de coloração rosada, constituídas de micélio e conídios do patógeno (Bianchini *et al.*, 1997; Rava *et al.*, 1995). Embora a erva-mate seja uma cultura perene, os sintomas ocasionados pela podridão de raízes são similares àqueles do amarelamento-de-fusarium em feijoeiro e isso indica que, independente da espécie atacada, o patógeno atua de forma semelhante, com prejuízo do sistema radicular e de suas funções.

Colônias puras de *Fusarium oxysporum* cultivadas em BDA tiveram um crescimento médio de 3,0 cm de diâmetro, a coloração das colônias variou de violeta, no centro, a esbranquiçada nas bordas. Em outras culturas em meio FCA, observou-se formação de microconídios produzidos em monofálides curtas e em forma de garrafa, em falsas cabeças ou isolados, de forma oval a reniforme. Macroconídios falcatos, moderadamente curvos, geralmente com três septos, célula apical na maioria das vezes curva e célula basal pedicelada. Clamidósporos abundantes, de forma oval, formados entre as células das hifas ou isolados.

Uma das principais doenças causadas por *Fusarium solani* é a podridão-radicular-do-feijoeiro em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) em que causa grandes danos na Europa, América Latina e Estados Unidos. A enfermidade causa estrias longitudinais avermelhada no hipocótilo e raiz primária de plantas jovens. A doença evolui até o aparecimento de manchas necróticas na raiz primária, as raízes secundárias geralmente são destruídas. O resultado é a destruição das raízes da planta, e conseqüentemente, a redução da produção (Bianchini *et al.*, 1997). *Fusarium solani* causa também a fusariose em pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.), podridão do sistema radicular ou infecção da folhagem. Os sintomas são amarelamento e queda das folhas, no sistema radicular aparecem estrias enegrecidas e, conseqüentemente, a destruição das raízes e, por fim, a

morte da planta (Trindade e Poltronieri, 1997a).

Colônias de *Fusarium solani* em meio BDA apresentaram crescimento anelar e mediram 2,5 cm de diâmetro médio, e sua coloração variou de creme a verde azulada. Em culturas em meio FCA, observou-se formação de microconídios formados em monofialides longas, em falsas cabeças ou isolados de forma oval a reniforme com uma ou duas células. Macroconídios grossos e ligeiramente curvos, na maioria das vezes com quatro a cinco septos (4-5 septos), célula apical curta e célula basal pedicelada, clamidósporos abundantes, ovais, formados entre as células das hifas, terminais ou isolados.

Fusarium decemcellulare é citado na literatura como sendo um dos principais causadores de doenças da parte aérea. Em plantas de cacau (*Theobroma cacao* Linn.) é causador da galha-de-pontos-verdes. A doença se caracteriza por intumescimento anormal das almofadas florais e excessiva produção de botões florais, resultando na não-formação de frutos. (Dalla Pria e Camargo, 1997). Em plantas de guaraná (*Paullinia cupana* Kunth) causa a doença Superbrotamento, excessiva brotação ao longo dos ramos em pontos próximos. Ocorre também uma tumoração ao longo dos ramos, caracterizado por crescimento desuniforme e exagerado de tecidos (Trindade e Poltronieri, 1997b). O superbrotamento causado por *Fusarium decemcellulare* também foi observado em culturas de limão-de-caieira (*Averrhoa bilimbi* Linn.), causando anomalias nas inflorescências. Os sintomas se manifestam tanto no tronco, como nos ramos e se caracterizam pelo desenvolvimento anormal de superbrotamento das inflorescências partindo do eixo floral, com inchamento dos talos florais. As flores e frutos jovens geralmente caem prematuramente, e os talos ficam totalmente secos (Bastos e Santos, 2001).

Colônias puras de *Fusarium decemcellulare* cultivadas em BDA tiveram um crescimento médio de 0,5 cm de diâmetro. As colônias em meio BDA observadas tiveram coloração rosada. Em outras culturas em meio FCA, encontrou-se formação de microconídios produzidos em cadeias curtas e falsas cabeças diretamente nas hifas ou em monofialides longas, de forma oval, geralmente com uma célula. Macroconídios falcatos a ligeiramente curvos, geralmente com cinco a oito septos (5-8 septos), célula apical em forma de gancho e célula basal em forma de pé. Não foi observada formação de clamidósporos.

Colônias puras de *Fusarium tabacinum* cultivadas em BDA tiveram um crescimento médio de 1,0 cm de diâmetro. A coloração das colônias variou de amarela-rosada a alaranjado. Em outras culturas em meio FCA, encontrou-se formação de microconídios abundantes produzidos em monofialides longas ou formados falsas cabeças, quase todos do mesmo formato, com uma ou duas células e com um ou dois vacúolos ou se septado, apareciam ligeiramente curvos, a célula apical pontiaguda e estreita e a célula basal pedicelada. Não foi constatada formação de macroconídios e clamidósporos.

Colônias puras de *Fusarium tricinctum* cultivadas em BDA tiveram um crescimento médio de 6,5 cm de diâmetro. A coloração das colônias variou de cinza-rosada a amarelada. Em outras culturas em meio FCA, encontrou-se formação de microconídios abundantes produzidos em monofialides longas, em falsas cabeças ou isolados, com forma de limão, napiforme a piriforme geralmente unicelulares e alguns com duas. Macroconídios falcatos, geralmente com três a cinco septos (3-5 septos), mais largos no centro e se afinando uniformemente até às pontas, a célula apical e basal quase iguais, porém, a célula basal pedicelada.

Em várias raízes de erva-mate amostradas, quando seccionadas ao meio no sentido longitudinal, observou-se a presença de estrias escuras desde as raízes mais finas até o tronco da erva. Em estágios mais avançados da doença, quando era feito algum esforço no sentido de empurrar a erva para o lado, o tronco deste se quebrava logo abaixo da superfície do solo, mesmo em alguns casos, a erva estando ainda viva. Em campo, é difícil atribuir os sintomas para uma ou outra espécie, pois na maioria das ervas amostradas foi encontrada mais de uma espécie de *Fusarium* associadas às raízes.

Testes de patogenicidade

As plantas inoculadas com as espécies de *Fusarium* foram avaliadas aos 180 dias após a inoculação, e os primeiros sintomas foram detectados aos 90 dias, com o tipo e o grau de severidade variando para cada espécie.

As plantas inoculadas com *Fusarium solani* obtiveram a nota 1 (até 20% de severidade) pelo grau de severidade. Os sintomas constatados foram estagnação do crescimento e amarelamento das folhas novas. As inoculadas com *Fusarium oxysporum* somente apresentaram estagnação do crescimento obtendo também a

nota 1 (até 20% de severidade). O sistema radicular das plantas desses dois tratamentos apresentaram raízes necrosadas nas pontas. Fragmentos de raízes, colocados em câmara úmida por dois dias, desenvolveram uma grande quantidade de micélio e conídios que, quando analisados em microscópio, se pôde constatar a presença das respectivas espécies inoculadas. Os talos, desde o colo até o ápice, também foram colocados em câmara úmida e, em três dias, se pôde observar micélio de *Fusarium* desenvolvendo-se partindo dos tecidos internos da muda.

Porém, quando as duas espécies, *Fusarium oxysporum* e *Fusarium solani*, foram inoculadas juntas, as notas de severidade foram 3 (40 a 60% de severidade). Os sintomas foram bem mais acentuados, com amarelamento e queda excessiva das folhas mais velhas, estagnação do crescimento, menor tamanho de folhas, arredondadas e as bordas viradas para cima tomando a forma de concha, apresentando clorose. Nos galhos, apareceram manchas marrons na casca. *Fusarium solani* e *Fusarium oxysporum* foram detectados associados às amostras de todos os municípios, e os sintomas foram mais acentuados quando foram inoculados juntos, o que nos leva a concluir que pode haver algum tipo de interação entre as duas espécies na ocorrência da podridão-de-raízes da erva-mate. No sistema radicular, observou-se necrose nas raízes mais novas, sobretudo nas pontas. Fragmentos de raízes e da parte aérea da muda foram colocados em câmara úmida. Depois de três dias, pôde-se observar desenvolvimento de micélio em todas as partes da muda. Lâminas microscópicas confeccionadas com esse material apresentaram estruturas das duas espécies.

Nas plantas inoculadas com *Fusarium decemcellulare*, somente foi observado o sintoma de crescimento mais lento, recebendo a nota 1 (até 20% de severidade) ao final de 180 dias. Porém, analisando o seu sistema radicular, pôde-se observar necrose em algumas partes, em especial nas pontas. Entretanto, tais plantas apresentaram um sintoma diferente das outras, produzindo um sistema radicular denso, agrupado (em forma de cabeleira) e curto, com uma excessiva emissão de radículas. Fragmentos do sistema radicular e parte aérea foram colocados em câmara úmida e após 4 dias, puderam-se observar estruturas típicas da espécie.

As plantas inoculadas com *Fusarium tricinctum* obtiveram notas 4 (60 a 80% de severidade). Os sintomas foram estagnação do crescimento, necrose e murcha das folhas, e morte repentina da muda. O sistema radicular se mostrou debilitado, com poucas raízes e com necrose desde as pontas até o colo da muda. Pedacos das raízes, caule e folhas foram colocados em câmara úmida e, após quatro dias, verificou-se que estruturas constituídas de micélio, desenvolveram-se nas raízes e no caule, até perto do ápice. Pedacos das colônias foram isolados e analisados em microscópio, e constatada a presença de estruturas típicas do fungo.

As plantas inoculadas com *Fusarium tabacinum* receberam nota 2 (20 a 40% de severidade). Os sintomas foram estagnação do crescimento, amarelamento a queda das folhas mais velhas. O sistema radicular apresentava necrose em algumas partes. Pedacos de raízes e da parte aérea foram colocados em câmara úmida e, após três dias, pôde-se observar micélio desenvolvido nos ferimentos e cortes das raízes e no talo da muda. Esse micélio foi analisado em microscópio, podendo-se constatar a presença de estruturas típicas da espécie descritas anteriormente.

Na Tabela 3, observam-se os resultados obtidos entre as espécies de *Fusarium* inoculadas na avaliação de peso da biomassa verde da parte aérea e radicular, altura das plantas e nota média do grau de severidade dos sintomas das plantas de erva-mate, após 180 dias de inoculação.

Pode-se observar, na Tabela 3, que a espécie de *Fusarium*, que mais teve severidade nos sintomas da doença, foi o *Fusarium tricinctum* apresentando menor peso de raízes (15,09 g) seguido do *Fusarium decemcellulare* com o menor peso de biomassa aérea (63,13 g) e altura (64,75 cm). Porém, *Fusarium solani* + *Fusarium oxysporum*, inoculados conjuntamente, obtiveram menores valores em todas as variáveis medidas, indicando que a podridão-de-raízes de erva-mate é acentuada pela associação das duas espécies de *Fusarium* e que estas, quando isoladas, têm menor severidade.

Por ser um fungo necrotrófico, *Fusarium* spp. é um habitante natural do solo, junto às plantações de erva-mate. Porém, em razão de fatores ainda pouco claros como, por exemplo, práticas de manejo inadequadas, excesso de adubação, estresse da erva-mate, modificações genéticas, mudança climáticas, esse fungo sofreu modificações, deixando de ser saprofítico e passando a ser patogênico, causando a podridão-

de-raízes.

TABELA 3: Variáveis observadas nas plantas de erva-mate após 180 dias de inoculação com diferentes espécies de *Fusarium* em ambiente de viveiro.

TABLE 3: Variables observed in *erva-mate* plants 180 days after inoculation with different species of *Fusarium* in nursery environment.

Espécie de <i>Fusarium</i>	Peso de folhas (g) ¹	Peso de raízes (g) ¹	Altura (cm) ¹	Severidade (%) ¹
<i>Fusarium solani</i>	79,40	20,71	68,75	até 20
<i>Fusarium oxysporum</i>	90,87	18,60	79,25	até 20
<i>Fusarium decemcellulare</i>	63,13	28,03	64,75	até 20
<i>Fusarium tricinctum</i>	70,44	15,09	75,00	60 a 80
<i>Fusarium tabacinum</i>	64,49	16,61	65,00	20 a 40
<i>F. solani</i> + <i>F. oxysporum</i> ²	48,08	12,16	54,75	40 a 60

Em que: 1 = Os valores se referem à média obtida das quatro plantas inoculadas; 2 = As duas espécies foram inoculadas conjuntamente.

Cada espécie de *Fusarium*, identificada e inoculada nas plantas, mostrou diferentes sintomas em maior ou menor grau, e todas se mostraram patogênicas para a erva-mate. O grau de severidade dos sintomas poderá variar de acordo com o ambiente a que o hospedeiro e patógeno estejam submetidos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os municípios de Arvorezinha, Ilópolis, Anta Gorda e Putinga possuem ervais contaminados com a doença da podridão-de-raízes de erva-mate causada por *Fusarium* spp.

Foram encontradas cinco espécies de *Fusarium* associadas à podridão-de-raízes de erva-mate: *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium decemcellulare*, *Fusarium tricinctum* e *Fusarium tabacinum*, e comprovou-se que todas essas espécies são patogênicas.

Fusarium oxysporum e *Fusarium solani* foram encontrados em todos os municípios amostrados.

Espécies do gênero *Fusarium* spp. são conhecidas por serem agentes causais de podridão radicular em espécies de culturas anuais, sobretudo as leguminosas, como feijão e soja. Há a possibilidade de que as áreas tenham sido contaminadas por *Fusarium* trazido por sementes dessas culturas contaminadas. Porém, áreas isoladas, sem cultivo de outra espécie, também têm apresentado a doença. Uma outra hipótese, é que as mudas viriam contaminadas dos viveiros, em que *Fusarium* é causador de doenças da erva-mate. Porém, não se pode descartar a hipótese de que o fungo possa ser um habitante natural dos solos da região e se tenha adaptado para atacar os ervais.

AGRADECIMENTOS

Aos técnicos da EMATER dos municípios de Arvorezinha, Ilópolis, Anta Gorda e Putinga, pela ajuda e dedicação prestada.

À Ervateira XIMANGO, pela colaboração financeira e dedicação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, F.M. **Diagnóstico da cadeia produtiva da erva-mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.)**. Disponível em: <<http://www.unicamp.br>>. Acesso em: 20 ago. 2001.

ARMSTRONG, G.M.; ARMSTRONG, J.K. *Formae speciales* and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. In: NELSON, P.E., TOUSSOUM, T.A.; COOK, R.J. **Fusarium: diseases, biology, and taxonomy**. Pennsylvania: Pennsylvania State University, 1981. p.391-399.

BASTOS, C.N.; SANTOS, A.O. Superbrotamento de inflorescências do limão-de-caieira causado por *Fusarium decemcellulare*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p.232, 2001.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.G. Doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. *et al.* **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3. ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1997. p.376-399.

BOOTH, C. **The genus *Fusarium***. Oxford: Commonwealth Mycological Institute, 1971. 237 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Divisão de Pesquisas Pedológicas. **Levantamento de reconhecimento dos solos do estado do Rio Grande do Sul**. Recife, 1973. 431 p.

BURGESS, L.W.; NELSON, P.E.; TOUSSON, T.A. **Laboratory manual for *Fusarium* studies**. Sydney: University of Sydney, 1981. 50 p.

DALLA PRIA, M.; CAMARGO, L.E.A. Doenças do Cacaueiro (*Theobroma cacao*) In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. *et al.* **Manual de Fitopatologia** : doenças das plantas cultivadas. 3. ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1997. p176-183.

EDEL, V.; STEINBERG, C.; GAUTHERON, N.; ALABOUVETTE, C. Populations of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* associated with roots of four plant species compared to Soilborne populations. **Phytopathology**, v. 84, p.693-697, 1997.

FERNANDES, M.R. **Manual para laboratório de fitopatologia**. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 1993. 128 p.

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

GODOY, P.; COLOMBO, A.L. Biologia e relevância clínica das espécies do gênero *Fusarium* spp. **Prática Hospitalar**, v. 11, n. 34, p.136-140. 2004.

GRIGOLETTI, J.A.; AUER, C.G. Podridão de raízes em erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) causada por *Fusarium* sp. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 572, 2001.

MORENO, J.A. **Clima do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre : Secretaria da Agricultura, 1961. 41 p.

NELSON, P.E.; TOUSSON, T.A.; MARASAS, W.F.O. ***Fusarium* species: an illustrated manual for identification**. Philadelphia: Pennsylvania State University Press, 1983. 193 p.

NELSON, P.E.; TOUSSON, T.A.; COOK, R.J. ***Fusarium*: disease, biology, and taxonomy**. Local : Pennsylvania State University Press, University Park, 1981. p.391-399.

RAVA, C.A.; SARTORATO, A.; COSTA, J. G. C. Reações de genótipos de feijoeiro comuns ao *Fusarium oxysporum* em casa de vegetação. **Fitopatologia Brasileira**, v. 21, p.296-300, 1995.

STRECK, E.V.; KÄMPF, N.; DALMOLIN, R.S.D.; KLAMT, E.; NASCIMENTO, P.C.; SCHNEIDER, P. **Solos do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: EMATER/RS : UFRGS, 2002. 126 p.

TRINDADE, D.R.; POLTRONIERI, L.S. Doenças da Pimenta-do-reino (*Piper nigrum*) In: KIMATI, H. ; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. *et al.* **Manual de fitopatologia**: doenças das plantas cultivadas. 3. ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1997a., p. 579-583.

TRINDADE, D.R.; POLTRONIERI, L.S. Doenças do guaraná (*Paullinia cupana*) In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. *et al.* **Manual de fitopatologia**: doenças das plantas cultivadas. 3. ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1997b. p. 459-462.

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. 271-297, 1999.

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