

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Amazônia Oriental  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*



19º Seminário de  
Iniciação Científica e  
3º Seminário de Pós-graduação  
da Embrapa Amazônia Oriental

ANNAIS 2015

19 a 20 de agosto

**Embrapa Amazônia Oriental**  
Belém, PA  
2015



## **Thielaviopsis ethacetica INFECTANDO A PALMA DE ÓLEO E HÍBRIDO INTERESPECÍFICO**

Taise Pereira Carvalho<sup>1</sup>, Alessandra de Jesus Boari<sup>2</sup>, Ayane Fernanda Ferreira Quadros<sup>3</sup>, Rui Alberto Gomes<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Graduanda do curso de Agronomia da Universidade Federal Rural da Amazônia; Bolsista da Embrapa Amazônia Oriental, taisepcarvalho@gmail.com.

<sup>2</sup> Pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Fitopatologia, alessandra.boari@embrapa.br

<sup>3</sup> Graduanda do curso de Agronomia da Universidade Federal Rural da Amazônia; Bolsista da Embrapa Amazônia Oriental, ayanefernanda@hotmail.com.

<sup>4</sup> Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, Melhoramento vegetal. E-mail: rui.gomes@embrapa.br

**Resumo:** Entre os anos de 2009 e 2015 foi obtida uma coleção de isolados do fungo do gênero *Thielaviopsis* (*Ceratocystis*) provenientes de plantas de palma de óleo com sintomas de Amarelecimento Fatal-AF, tombamento de plantas, podridão radicular, seca ascendente das folhas e podridão de folha flecha dos municípios de Moju, Tailândia e Tomé-Açu, estado do Pará. Os isolados foram obtidos de tecidos do meristema, pecíolos, estipe e raízes com podridão de plantas de palma de óleo tipo Tenera e do híbrido *Elaeis guineenses* x *E. oleifera* (HIE). Deste modo, o presente trabalho teve o objetivo identificar a(s) espécie(s) do fungo *Thielaviopsis* isolado de plantas com estes sintomas, e realizar um estudo sobre a sua patogenicidade. Cinco isolados foram selecionados, reativados em meio BDA e sequenciados a partir dos produtos do PCR das regiões ITS, BT e TEF. No teste de patogenicidade, sete isolados foram inoculados em folhas e pecíolo de mudas de palma de óleo e híbrido, previamente feridos. Após análise filogenética verificou-se que todos os cinco isolados analisados pertencem à espécie *T. ethacetica*, segundo a nova redefinição taxonômica do gênero *Ceratocystis*. Anteriormente, esta espécie foi classificada como *T. paradoxa*. No postulado de Koch os isolados de *T. ethacetica* causaram podridão no pecíolo e folhas das mudas inoculadas de palma de óleo. O fungo *T. paradoxa* já foi relatado em raízes de plantas com AF no ano de 2000, e como causador da doença AF e Pudricion del cogollo da Colômbia.

**Palavras-chave:** dendê, *Elaeis guineenses*, amarelecimento fatal, podridão de raízes



## Introdução

No estado do Pará, o fungo *Thielaviopsis paradoxa* foi relatado infectando plantas de palma de óleo com sintomas de Amarelecimento Fatal-AF e podridão radicular e basal (AYALA; GOMES, 2000; BOARI; TREMACOLDI, 2012; MARTINS, 2001).

Segundo Beer et al. (2014), devido às suas características morfológicas semelhantes, *Thielaviopsis ethacetica* foi considerado sinônimo de *Thielaviopsis paradoxa* por mais de 100 anos.

Entre os anos de 2009 e 2015 foi obtida uma coleção de isolados do fungo do gênero *Thielaviopsis* provenientes de plantas de palma de óleo com sintomas de AF, tombamento de plantas, podridão radicular, seca ascendente das folhas e podridão da folha flecha, dos municípios de Moju, Tailândia e Tomé-Açu, estado do Pará

Deste modo, o presente trabalho teve os objetivos de identificar a(s) espécie(s) dos isolados de *Thielaviopsis* oriundas de plantas de palma de óleo e estudar sua patogenicidade.

## Material e Métodos

Da coleção de *Thielaviopsis* do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental foram selecionados cinco isolados para identificação da espécie por meio do sequenciamento de DNA e teste de patogenicidade, sendo dois de plantas com Amarelecimento Fatal (Tenera; Tailândia-PA), dois com seca ascendente (Tenera e HIE; Moju-PA) e um com podridão da folha flecha (HIE; Moju-PA). Além disso, também foram selecionados um isolado proveniente de raízes de planta tombada de HIE (Moju-PA) e outro de seca ascendente (Tomé-Açu-PA) para a realização do teste de patogenicidade.

Os isolados selecionados foram reativados em meio de BDA, e em seguida foi feita a extração de DNA a partir das colônias fúngicas, o PCR e o sequenciamento das regiões ITS,  $\beta$ -tubulina e TEF-1 $\alpha$ . As sequências de DNA obtidas a partir do sequenciamento direto dos produtos do PCR foram avaliadas utilizando os programas Blastn, ClustalW e MEGA 6.0.

Cada isolado foi inoculado em cinco plantas de palma de óleo tipo Tenera e BRS Manicoré (folhas e pecíolo) sob condições de câmara-de-crescimento e casa-de-vegetação. Em cada muda foram inoculadas 3 folhas, sendo o disco contendo cultura pura do fungo depositado sobre as mesmas



previamente feridas. Essas mudas foram mantidas por uma semana em câmara úmida, por meio da pulverização de água nas mesmas e colocação de saco plástico. Já na estufa, cada muda teve 3 pecíolos feridos e inoculados por meio de deposição de disco da cultura pura do fungo, envolvidos por um parafilme. Essas plantas foram observadas por uma semana, e em seguida, fez-se o re-isolamento do fungo a partir das plantas sintomáticas.

### Resultados e Discussão

Após a análise filogenética foi possível observar na árvore, ao se utilizar o método Neighbor-Joining, através de uma análise de bootstrap feita com 2.000 repetições, que os cinco isolados pertencem à espécie *T. ethacetica* (*Ceratocystis ethacetica*). Sequências dos DNA dos isolados foram depositados no GenBank. Recentemente, um grupo de taxonomistas redefiniu a taxonomia do complexo *Ceratocystis paradoxa* baseada na comparação de sequências nucleotídicas de diferentes regiões do DNA, a partir de vários isolados do mundo depositados na coleção do CBS, inclusive de isolado brasileiro proveniente de abacaxi com podridão do estado de São Paulo (BEER et al., 2014).

Os sete isolados do fungo inoculados em mudas (pecíolo e folha) de palma de óleo Tenera e BRS Manicoré, causaram a necrose foliar (Figura 1A) e podridão localizada do pecíolo (Figura 1B). O fungo (Figura 1C) foi recuperado das folhas e pecíolos inoculados. Entretanto, não causaram morte das mesmas provavelmente por ter sido inoculado na parte aérea e sem as condições ambientais favoráveis, como a umidade.

Há vários relatos sobre a associação do fungo *Thielaviopsis* com plantas estressadas ou debilitadas por fatores abióticos como os nutricionais, solos salinos e hídricos, sendo considerado um patógeno oportunista. Um dos isolados aqui estudado foi obtido de planta com deficiência acentuada de boro. Segundo Tuner (1981) o *T. paradoxa*, ocorre apenas quando há uma combinação específica de fatores ambientais, o que faz com que este seja insignificante quanto à importância fitossanitária. No Pará é bastante comum a associação de *T. ethacetica* com palmas de óleo com Anel Vermelho. Martins e Furtado (2001) separadamente analisaram as mesmas dez amostras de raízes de palma de óleo com AF e identificaram os fungos fitopatogênicos *Fusarium* sp. e *Ceratocystis* sp. Segundo Martins (2001), os fungos pertencentes ao gênero *Ceratocystis* são importantes agentes causais de murchas vasculares, cancrios e seca de ramos em árvores. A espécie *Ceratocystis fimbriata* é capaz de



produzir etileno, que pode interferir no crescimento e desenvolvimento da planta. Algumas espécies de *Ceratocystis* são transportadas pelos vasos das plantas, quase exclusivamente via xilema, além de terem a capacidade de produzir toxinas dentro das mesmas. Martins (2001) ressalta que os fungos *Fusarium* e *Ceratocystis* colonizadores do sistema vascular induzem o aparecimento de sintomas semelhantes aos de deficiências nutricionais, como ocorrem em plantas com AF. Ayala e Gomes (2000) afirmaram que o *T. paradoxa* é o causador da Podricion del Cogollo e AF no Brasil. Sales (2011) após realizar a análise geoestatística da distribuição espacial do AF em um plantio no Nordeste paraense, concluiu que a doença possui uma distribuição agregada que reforça a hipótese de sua origem ser biótica.

No campo o HIE continua sendo resistente ao AF, e é o mais indicado para o seu controle.



**Figura 1:** A) Pecíolo de palma de óleo inoculado com sintomas de podridão; B) Folha de muda inoculada; C) Frutificação do *Thielaviopsis ethacethica*. Fotos: Alessandra J. Boari

### Conclusões

Todos isolados de fungos selecionados provenientes de palma de óleo com sintomas de Amarelecimento Fatal, podridão de meristema, podridão de folha flecha e seca ascendentes pertencem à espécie *T. ethacethica* de acordo com a nova redefinição taxonômica. Todos os isolados testados foram patogênicos quando inoculados em mudas, mas não foi observada sua morte.

### Referências Bibliográficas

AYALA, L.; GOMES, P. L. Patogenicidad de aislamientos de *Thielaviopsis paradoxa* principal agente causal de la Pudrición de Cogollo. **Palmas**, v. 21, p. 121-122, 2000.



BEER, Z. W.; DUONG, T. A.; BARNES, I.; WINGFIELD, B. D.; WINGFIELD, M. J. Redefining *Ceratocystis* and allied genera. **Studies in mycology**, v. 79, p. 187-219, 2014.

BOARI, A. J.; TREMACOLDI, C. R. Podridão do estipe causada por *Thielaviopsis paradoxa* em palma de óleo no Estado do Pará. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 37, ago. 2012. 1 CD-ROM. Suplemento. Edição dos Resumos do 45º Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Manaus, 2012.

MARTINS, A. N. Relatório referente às análises microbiológicas realizadas em amostras de raízes de dendzeiros com e sem sintomas de amarelecimento fatal, provenientes de plantios da Denpasa, Pará. In: DENPASA. **Pesquisa sobre amarelecimento fatal**. Belém, PA, 2001.

SALES, T. M. **Análise geostatística da distribuição espacial do amarelecimento fatal do dendzeiro no Nordeste paraense**. 2011. 32 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, PA.

TURNER, P. D. **Oil Palm Diseases and Disorders**. Kuala Lumpur: Oxford University Press, 1981. 280 p.