

MURCHA CAUSADA POR *Fusarium oxysporum*, UMA NOVA DOENÇA DA PIMENTA-DO-REINO NO ESTADO DO PARÁ

MARIA L. R. DUARTE¹, FERNANDO C. ALBUQUERQUE¹, MASAHIRO HAMADA^{1*} & ANA P. COSTA²

¹Embrapa Amazônia Oriental, Tv. Dr. Eneas Pinheiro, s/nº, Caixa Postal 48, CEP 66095-100, Belém, PA, fax (091) 276-9845, e-mail: mlurdes@cpatu.embrapa.br; ²Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, Tv. Tancredo Neves, s/nº, CEP 66077-530, Belém, PA

(Aceito para publicação em 12/03/99)



Autor para correspondência: Maria de Lourdes Reis Duarte

DUARTE, M.L.R., ALBUQUERQUE, F.C., HAMADA, M. & COSTA, A.P. Murcha causada por *Fusarium oxysporum*, uma nova doença da pimenta-do-reino no Estado do Pará. Fitopatologia Brasileira 24:178-181. 1999.

RESUMO

Uma nova doença vem sendo observada, desde 1992, afetando plantas de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) nos municípios de Tomé-Açu, Santa Izabel e Capitão Poço, no Estado do Pará. Nas hastes das plantas doentes surgem lesões necróticas triangulares, ao redor da linha do nó, que progridem no sentido ascendente, concentrando-se unilateralmente, de modo que os entrenós apresentam-se metade verde, metade necrosado. Ocorre ainda, internamente, o escurecimento dos vasos e posteriormente, queda de folhas e de entrenós e no estágio avançado da doença as plantas murcham e morrem rapidamente. O patógeno foi identifi-

cado como *Fusarium oxysporum* Schlecht.: Fr. Mudanças das cultivares Bragantina, Cingapura e Guajarina inoculadas por imersão em suspensão de esporos do patógeno ($3,7 \times 10^5$ conídios ml⁻¹) mostraram sintomas típicos da doença quatro semanas após a inoculação. A cultivar Guajarina comportou-se como altamente susceptível ao patógeno quando comparada às Bragantina e Cingapura. Trata-se da primeira ocorrência de *Fusarium oxysporum* infectando plantas de pimenta-do-reino no Brasil.

Palavras-chave: *Piper nigrum*, doenças fúngicas, descrição de doenças, reação de cultivares.

ABSTRACT

Black pepper wilt caused by *Fusarium oxysporum* in the state of Para

Since 1992, black pepper plants planted in the field for more than four years have been affected by a new disease, in the municipalities of Tomé-Açu, Santa Izabel and more recently, Capitão Poço, in the state of Pará, Brazil. Infected plants have shown yellowing, shedding of leaves and internodes, showing triangular and necrotic lesions around the nodes of the main branch which have resulted in unilateral necrosis of internodes, turning them half green, half necrotic. Internally, vessels show discoloration which extends from the roots to the main vein of leaves. The pathogen was

identified as *Fusarium oxysporum* Schlecht.: Fr., a new pathogenic form infecting black pepper. Plants of 'Bragantina', 'Cingapura' and 'Guajarina', the more popular cultivars, inoculated by immersion in a spore suspension of *F. oxysporum* (3.7×10^5 cells ml⁻¹), showed typical symptoms after four weeks. 'Guajarina' behaved as highly susceptible in comparison to 'Bragantina' and 'Cingapura'. This is the first report of *Fusarium oxysporum* infecting black pepper plants in Brazil.

A pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) constitui uma opção agrícola rentável para os produtores da Amazônia. Explorada, atualmente, em cultivos consorciados principalmente com maracujazeiro, cupuaçuzeiro ou essências florestais, como o mogno, ocupa o segundo lugar na pauta das exportações de produtos agrícolas, do Estado do Pará.

Nas condições de cultivo a pleno sol, a planta é afetada por várias doenças causadas por fungos, vírus, alga e nematóides, as quais, embora causem danos à cultura, são consideradas de importância secundária quando comparadas à podridão das raízes e secamento dos ramos causado por *Nectria haematococca* Berk & Br. f. sp. *piperis* Albuquerque, a mais destrutiva doença dessa cultura no Brasil (Duarte & Albuquerque, 1997).

A partir de 1992, vêm sendo observadas plantas com sintomas de murcha seguida de morte rápida, em experimentos instalados no campo experimental da Embrapa Amazônia Oriental, em Tomé-Açu, onde estava sendo testada apenas a cultivar Guajarina (Duarte *et al.*, 1997). Posteriormente, a doença foi também observada no município de Santa Izabel do Pará e em Capitão Poço afetando a mesma cultivar. O exame das plantas doentes mostrou que, embora exibissem sintomas de murcha, estes eram distintos daqueles incitados por *N. haematococca* f. sp. *piperis*.

No presente trabalho são apresentados os resultados referentes à caracterização dos sintomas, identificação do agente causal, testes de patogenicidade e a resposta de três cultivares de pimenta-do-reino ao patógeno.

Foram feitas visitas em diferentes quadras experimentais no campo experimental da Embrapa Amazônia Oriental.

* Estagiária da Embrapa Amazônia Oriental

localizado em Tomé-Açu e em áreas de produtores que plantam as cultivares Cingapura e Guajarina, nos municípios de Santa Izabel do Pará, Capitão Poço, Ipixuna, Tomé-Açu e Paragominas com o objetivo de registrar a distribuição da doença em outras áreas produtoras, além de Tomé-Açu.

Isolamento e identificação do patógeno - Nas áreas afetadas foram coletadas porções da haste e do sistema radicular de plantas da cultivar Guajarina. Em laboratório, esse material foi lavado em água corrente, desinfetado com hipoclorito de sódio (1,25%) e lavado duas vezes em água destilada esterilizada. Porções dos tecidos internos descoloridos foram transferidas para placas de Petri contendo ágar-água (0,15%) e mantidas a 25 °C sob 12 horas de iluminação, em uma incubadora. Após 3-4 dias, porções da periferia das colônias, desenvolvidas a partir dos tecidos infectados, foram transferidas para tubos de ensaio contendo batata-dextrose-ágar (BDA). Colônias puras do patógeno foram preservadas em tubos de BDA e em solo esterilizado a vapor úmido.

Culturas puras do organismo isolado cultivadas em tubos de BDA foram enviadas ao International Mycological Institute (IMI), em Egham, Inglaterra, para identificação em nível de espécie.

Estacas herbáceas contendo dois nós foram pré-enraizadas em caixas de madeira (1,0 m x 0,40 m x 0,20 m) contendo casca de arroz carbonizada, onde permaneceram por dois meses. A fim de estimular a emissão de folhas jovens e manter as mudas em bom estado nutricional, as plantas foram regadas com adubo foliar comercial, na concentração de 0,1% com intervalo quinzenal (três aplicações), permanecendo em telado com 50% de sombreamento, até o momento da inoculação. Porções de solo contendo clamidosporos, retiradas de tubos de ensaio para preservação do fungo, foram transferidas para tubos de ensaio contendo BDA. Após 7-10 dias foi preparada uma suspensão concentrada de conídios (1 ml/tubo de cultura). Cerca de 1 ml dessa suspensão foi vertido e distribuído na superfície de placas de Petri com um bastão de vidro. As placas foram incubadas a 25 °C sob iluminação (12 h luz/12 h escuro) durante 10 dias. Após esse período uma nova suspensão de esporos na concentração de $3,7 \times 10^5$ ml⁻¹ foi preparada. Mudas das cultivares Bragantina, Cingapura e Guajarina foram retiradas das caixas de pre-enraizamento, lavadas em água corrente para eliminação da casca de arroz remanescente e imersas na suspensão de esporos por duas horas, sem ferimentos adicionais. Em seguida, as mudas foram plantadas em sacos plásticos pretos (32 cm x 17 cm x 0,10 cm) perfurados, contendo substrato (terra preta + adubo orgânico + calcário + NPK) esterilizado quimicamente, etiquetadas e mantidas em telado com 50% de sombreamento até o aparecimento dos primeiros sintomas. Plantas das mesmas cultivares, imersas somente em água destilada, por igual período, constituíram o tratamento Testemunha.

Avaliação e Análise dos dados - Após quatro semanas, quando surgiram os primeiros sintomas da doença, as plantas foram retiradas dos sacos plásticos, lavadas em água corrente e avaliadas considerando-se a intensidade dos sintomas externos e a invasão vascular. Na avaliação dos sintomas externos foi usada uma escala de notas onde: 1 = folha túrgida, ausência de sintomas; 2 = folha verde e flácida; 3 = folhas flácidas e amareladas; 4 = folhas inferiores murchas, queda

de folhas jovens e de entrenós; 5 = amarelecimento e murcha das folhas, necrose da brotação.

Para avaliar a extensão da invasão dos tecidos internos foi usada a escala de avaliação, adaptada e modificada, de Ribeiro & Ferraz (1984), onde: 1 = ausência de descoloração vascular; 2 = descoloração vascular em 25% dos entrenós; 3 = descoloração vascular em 50% dos entrenós; 4 = descoloração vascular em todos os entrenós; 5 = necrose completa do tecido vascular.

A fim de se observar a frequência de recuperação do patógeno foram feitos reisolamentos em todas as plantas inoculadas.

O delineamento experimental usado foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e dez repetições. Os dados obtidos foram analisados pelo método estatístico de Kruskal-Wallis e o total dos *ranks* comparados pelo teste de Tukey modificado para dados não paramétricos, em nível de 5% de significância ($\alpha = 0,05$) (Zar, 1984).

As inspeções realizadas mostraram que a doença tem afetado plantas da cultivar Guajarina, nos municípios de Tomé-Açu, foco inicial da doença, Santa Izabel do Pará e Capitão Poço. Nesses locais, estima-se que cerca de 20% das plantas dessa cultivar já tenham sido dizimadas pela doença. Não há registro de ocorrência da doença em Paragominas, onde há uma grande concentração de pimentais. Devido à destruição de pimentais formados com a cultivar Guajarina no município de Ipixuna, suspeita-se que a morte das pimentais nessa localidade, tenha sido resultante da infecção causada por *Fusarium oxysporum*.

O fungo penetra na planta através das raízes, favorecido ou não, por ferimentos causados por *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* ou de outra natureza.. No processo de colonização, invade o sistema vascular causando o escurecimento e impedindo a absorção e circulação de água e nutrientes. Essa necrose vascular, inicialmente unilateral, estende-se até as nervuras das folhas dos ramos apicais, resultando na murcha rápida e morte das plantas. Externamente, a planta afetada exibe amarelecimento, queda gradual das folhas e entrenós e ausência de brotações novas. Na região nodal surgem lesões necróticas de forma triangular, cuja base se estende ao redor do nós, em semicírculo. Essas manchas progridem no sentido ascendente dos entrenós, unilateralmente, de modo que os entrenós apresentam-se metade verdes, metade necrosados. Quando várias raízes são infectadas, a planta tende a secar rapidamente, permanecendo a maior parte da folhagem presa aos ramos. Em condições de campo, a doença tem sido observada, até o momento, em pimentais formados com a cultivar Guajarina, com mais de quatro anos de idade, mesmo em propriedades onde o produtor possui mais de uma cultivar.

Identificação do agente causal - O fungo foi isolado de porções internas de tecido descolorido dos ramos ortotrópicos, exibindo lesões necróticas as quais foram transferidas para placas de Petri contendo ágar-água a 0,15%. Em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), o patógeno produz micélio flocoso, esparso, de coloração branca a violeta claro. Conídios hialinos e abundantes são produzidos no centro da colônia. Os macroconídios são falcados a quase retos, de paredes finas, medindo 12 µm - 44 µm x 4 µm - 8 µm, com a célula apical terminando em gancho e a basal em forma de

pé. O número de septos varia de 3 a 7, sendo mais freqüente encontrar macroconídios com 4 septos. Os microconídios, formados em falsas cabeças e em monofíalides sobre hifas curtas e não ramificadas, são unicelulares, ovais a elípticos e medem 3,6 µm - 9,6 µm x 2,4 µm - 6,0 µm. Os primeiros clamidósporos são observados quando a colônia atinge oito dias de desenvolvimento, mas, aos 30 dias, grande parte do micélio e dos conídios apresentam-se diferenciados em clamidósporos globosos, de parede espessa e de cor marrom clara. O patógeno foi identificado pelo Dr. D. Brayford do International Mycological Institute (IMI), como sendo uma forma patogênica de *Fusarium oxysporum* Schlecht.: Fr.. Culturas do fungo encontram-se na coleção do IMI, registro nº 364479 e na coleção de fungos fitopatogênicos do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental.

Resposta de três cultivares de pimenta-do-reino à colonização pelo patógeno - Os primeiros sintomas da infecção foram observados na cultivar Guajarina, quatro semanas após a inoculação. As plantas infectadas exibiram diferentes tipos de sintomas que variaram desde murcha, amarelhecimento, lesões necróticas na região nodal, ausência de brotação e necrose do broto, descoloração parcial ou completa do sistema vascular o qual estendeu-se das raízes até a nervura das folhas, culminando em morte da planta.

A análise dos dados revelou ser a cultivar Guajarina mais suscetível à infecção que as cultivares Bragantina e Cingapura, quando os sintomas externos e a invasão vascular foram considerados (Tabela 1).

TABELA 1 - Severidade da murcha da pimenta-do-reino causada por *F. oxysporum* em três cultivares de pimenta-do-reino. (Média de 10 repetições).

Tratamento/cultivar	Média dos Ranks ¹	
	Sintomas externos	Invasão vascular
Guajarina	55,3 a	34,1 a
Cingapura	38,1 b	21,4 b
Bragantina	34,1 b	19,6 b
Testemunha	18,5 c	7,0 c

¹ Médias seguidas de mesmas letras não diferem entre si em nível de 5% de significância, segundo o teste de Tukey modificado, para dados não paramétricos (Zar, 1984).

A maior taxa de recuperação de colônias do patógeno, re-isolado a partir de tecidos das plantas inoculadas, foi observada com a cultivar Guajarina.

A ocorrência de uma forma patogênica de *Fusarium oxysporum* Schlecht.: Fr. infectando a pimenta-do-reino constitui uma nova ameaça à pipericultura na região amazônica, principalmente em áreas onde é explorada a cultivar Guajarina que se mostrou muito suscetível.

As lesões triangulares na região nodal e a necrose unilateral dos entrenós são sintomas característicos da murcha causada por *F. oxysporum* que permitem uma clara diferenciação entre essa nova doença e a podridão das raízes e secamento dos ramos causadas por *Nectria haematococca* f. sp. *piperis*, já que ambos patógenos podem provocar a queda das folhas, dos entrenós e a morte das plantas afetadas. Essa semelhança na aparência dos sintomas externos têm levado

os pipericultores à conclusão errônea de que a cultivar Guajarina é mais suscetível à fusariose da pimenta-do-reino do que a 'Cingapura', tradicional na região.

Nos testes de patogenicidade, as cultivares Bragantina e Cingapura exibiram apenas folhas túrgidas e flácidas com ausência de brotação quando comparadas com a 'Guajarina'. O exame dos tecidos internos mostrou entretanto, descoloração vascular e, em 50% das plantas, essa descoloração se estendeu por 50% dos entrenós, indicando que o patógeno tem habilidade de penetrar os tecidos dessas cultivares em condições experimentais. Quando a penetração ocorreu através do nó, no nível do solo, lesões triangulares características foram observadas, principalmente na cultivar Guajarina. Nessa cultivar, além da murcha, necrose dos brotos, queda de folhas e entrenós, algumas plantas apresentaram necrose unilateral dos entrenós comprovando-se desse modo, a alta suscetibilidade dessa cultivar a *F. oxysporum*. Essa observação contribuiu para esclarecer melhor o fato de que essa doença tem ocorrido, em condições de campo, somente na cultivar Guajarina. A invasão vascular das nervuras das folhas poderá facilitar a dispersão dos esporos do patógeno, formados sobre as folhas secas, para áreas mais distantes através do vento, máquinas agrícolas e dos operários rurais que têm livre trânsito nas propriedades, principalmente na época da colheita.

A cultivar Guajarina, lançada em 1982 pela Embrapa Amazônia Oriental, é um ecotipo da cultivar indiana 'Arkulan Munda' que apresenta folhas largas e espigas longas. Embora seja suscetível a *N. haematococca* f. sp. *piperis*, essa cultivar vem tendo a preferência dos produtores por apresentar produtividade superior à 'Cingapura', nas mesmas condições de cultivo. Os preços atraentes da pimenta-do-reino no mercado internacional, cerca de US\$ 5.000,00/t, têm estimulado a ampliação da área plantada. Cerca de 30% dos novos pimentais são formados pela cultivar Guajarina. Medidas de controle devem ser tomadas com urgência, para minimizar as perdas causadas pela doença aos produtores. Alguns produtores do município de Tomé-Açu vêm tentando reduzir a propagação da doença através de práticas culturais como uso de formulações de fertilizantes com alto teor de K₂O, proteção do solo com cobertura viva através da roçagem periódica da vegetação nativa da área cultivada e pulverizações com benomyl, alternado com mancozeb.

A origem dessa nova forma patogênica ainda é desconhecida. Ainda não foram identificados hospedeiros nativos, mas, é provável que estes sejam encontrados dentro da população de piperaceas nativas, como ocorre com *N. haematococca* f. sp. *piperis* (Albuquerque et al., 1997).

O único relato de uma forma de *F. oxysporum* associada à pimenta-do-reino foi feito por Mustica et al. (1988) quando constataram que o amarelhecimento da pimenta-do-reino, na Indonésia, poderia ser causado por um múltiplo ataque de *Fusarium oxysporum* associado a *Rhizopholus similis* e *Meloidogyne incognita*. Não há registro de ocorrência de murcha incitada apenas por *F. oxysporum*.

Tratando-se de um fungo de solo, o arranquio e queima das plantas doentes, uso de estacas oriundas de plantas sadias e o tratamento preventivo de estacas com fungicidas eficientes são medidas básicas de controle recomendadas para prevenir a disseminação do patógeno para novas áreas.

Este é o primeiro registro de *F. oxysporum* infectando plantas de pimenta-do-reino no Brasil.

LITERATURA CITADA

- ALBUQUERQUE, F.C., HAMADA, M. & DUARTE, M.L.R. *Piper aduncum*, espécie nativa da Amazônia hospedeira de *Nectria haematococca* f. sp. *piperis*. *Fitopatologia Brasileira* 22: 201-204. 1997.
- DUARTE, M.L.R. & ALBUQUERQUE, F.C. Doenças da Pimenta-do-reino. In: Valle, F. C. R. & Zambolim, L. (Eds.) *Controle das doenças das plantas cultivadas - Culturas Industriais*. Viçosa. Imprensa Universitária. 1997. pp.879-923.
- DUARTE, M.L.R., ALBUQUERQUE, F.C. & HAMADA, M. Murcha da pimenta-do-reino causada por *Fusarium oxysporum*. *Fitopatologia Brasileira* 22(Suplemento): 260-261. 1997. (Resumo).
- MUSTICA, I., SUDRADJAT, D. & VIKANDA, A. Control of pepper yellow disease with fertilizer and pesticides. *Review of Plant Pathology* 67: 670. 1988. (Abstract).
- RIBEIRO, C.A.G. & FERRAZ, S. Resistência varietal do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. *Fitopatologia Brasileira* 9: 37-44. 1984.
- ZAR, J.H. *Biostatistical Analysis*. 2nd ed. New Jersey. Prentice Hall, Englewood Cliffs. 1984.

98041

