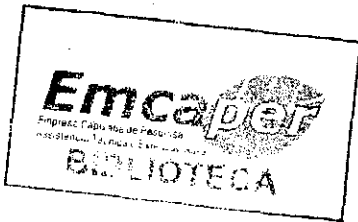


9165 (15092)



21 PC
EMC

Wulso
Taxonomia de *Fusarium* e seus segregados. I - História, meios e procedimentos - 271

TAXONOMIA DE *FUSARIUM* E SEUS SEGREGADOS. I - HISTÓRIA, MEIOS E PROCEDIMENTOS DE CULTIVO

1999

autor

José Aires Ventura J. A.
Empresa Capixaba de Pesquisa Agropecuária, Caixa Postal 391,
29010-901 Vitória, ES
ventura@emcapa.es.gov.br
emcapa01@npd.ufes.br

Palavra chave
TAXONOMIA; *Fusarium*;
História;

RESUMO

O gênero *Fusarium* é um dos mais importantes na fitopatologia mundial, tendo nos últimos anos adquirido também importância devido à produção de micotoxinas responsáveis por doenças em pessoas e animais, além de algumas espécies serem responsáveis por infecções oportunistas em pessoas, principalmente naquelas com deficiência imunológica.

A identificação das espécies de *Fusarium* é um dos primeiros passos para o seu estudo. Tradicionalmente a identificação tem sido realizada com base na morfologia, o que, no entanto, tem criado controvérsias, desde a publicação em 1935 do primeiro tratado do gênero "Die Fusarien", por Wollenweber e Reiking. Muitos outros sistemas têm sido propostos, tendo como base o trabalho de Wollenweber, mas nenhum deles resolveu completamente o problema da identificação das espécies.

As descrições são baseadas nas condições de cultura do fungo (crescimento micelial, pigmentação, estruturas e esporulação), observações microscópicas (conidióforos, conídios e clamidósporos), odores e, mais recentemente, a produção de micotoxinas e o uso de técnicas de biologia molecular, estas tidas como importantes ferramentas auxiliares na taxonomia e caracterização dos isolados de *Fusarium*.

Nesta revisão procurou-se fornecer subsídios para micologistas, fitopatologistas e pesquisadores interessados em *Fusarium*, descrevendo a história dos diferentes sistemas de taxonomia das espécies, meios e procedimentos de cultura, incluindo também as espécies relatadas no Brasil, e deixando para a parte II, a atualização do sistema e chaves para a identificação das espécies.

Revisão Anual de Patologia de Plantas
v.7, p.271 - 298, 1999.

RAPP - Volume 7, 1999

Fol. 9165
V468t
1999
ex. 15092

SUMMARY

TAXONOMY OF FUSARIUM AND ITS RELATEDED GENERA:

I - HISTORY, MEDIA AND CULTURING PROCEDURES

The genus *Fusarium* are among the most important plant pathogens in the world, and in recent years many *Fusarium* species have acquired additional importance because they have been shown to produce mycotoxins causing both animal and human diseases, and there are a number of species which cause opportunistic infections of humans, especially the immuno-suppressed.

The identification of *Fusarium* species is the first steps of their study. Traditionally, identification has been based on morphologic characters, however, its use still leaves unsolved controversies, besides not being accurate enough to distinguish strains.

The taxonomy of the genus *Fusarium* and its related has been a subject of controversy for many years since 1935 with the publication of Wollenweber and Reiking paper "Die Fusarien". Several other taxonomic systems have been proposed for the genus. These systems are based on the work of Wollenweber, and although each system has something to offer, none of them is satisfactory by itself for the identification of *Fusarium* species.

One of the problems of the researchers and *Fusarium* workers is the correct identification of each strain. The description is based on observations of the fungus in culture under various conditions (colony growth, aerial mycelium, pigmentation, sclerotial bodies, sporulation), microscopic observation (conidiophores, conidia and chlamydo spores), odours and recently mycotoxins production and molecular techniques are a powerful tools and are of great utility for *Fusarium* taxonomy and characterisation. Recent advances in the biochemical, genetic and molecular techniques are beginning to challenge in the systematics of the genus *Fusarium* and new concepts are emerging.

The main purpose of the work at hand is to serve mycologists, plant pathologists and others interested in *Fusarium* as reference papers for comparison, identification and diagnosis. It is also intended as a means of pointing out gaps in matters concerning nomenclature, systematics and plant pathology. A complete discussion of all of the taxonomic systems for *Fusarium* species, media, culturing procedures and species related in Brazil are in part I. The key has been intentionally omitted and will be presented in part II, but to do so, further research is needed which will lead to a grouping *Fusarium* species with the help of molecular biology.

INTRODUÇÃO

Os fungos do gênero *Fusarium* são um dos mais importantes fitopatógenos do mundo, tendo nos últimos anos algumas espécies adquirido importância também como produtoras de micotoxinas responsáveis por doenças em animais e humanos, existindo um número de espécies que pode causar infecções oportunistas em pessoas, especialmente quando imunossuprimidas (Burgess et al., 1994).

Algumas espécies são particularmente comuns no solo onde podem persistir sob a forma de clamidósporos ou como hifas, enquanto que outras espécies produzem conídios disseminados pelo ar, colonizando normalmente ramos, folhas, inflorescências e frutos (Burgess, 1981; Burgess et al., 1994).

O gênero tem uma ampla distribuição geográfica, tendo espécies cosmopolitas e outras com ocorrência restrita a determinados ambientes, ocorrendo, predominantemente, nas regiões tropicais e subtropicais ou em condições de clima frio das regiões temperadas (Tabela 1), embora algumas espécies tenham uma íntima associação com os seus hospedeiros (Burgess et al., 1994).

A variabilidade das culturas é comum em algumas espécies como *F. oxysporum*, *F. solani* e *F. equiseti*, estando possivelmente associada a sua ampla adaptação em diferentes ambientes (Burgess et al., 1994), enquanto que outras com menor variabilidade como *F. decemcellulare*, teriam uma distribuição mais restrita a ambientes específicos.

O principal objetivo da sistemática de fungos é organizá-los em grupos que facilitem a identificação das espécies e a relação entre elas, dependendo diretamente das informações disponíveis para análise. Tradicionalmente, os fungos são classificados em espécies de acordo com as características morfológicas, no entanto estas análises, muitas vezes não possibilitam distinguir a homologia e convergência das espécies principalmente no caso dos fungos mitospóricos (Leal-Bertioli, 1998).

A espécie é a unidade fundamental de classificação biológica mas o seu conceito ainda apresenta problemas teóricos e práticos (Leal-Bertioli, 1998).

As ferramentas para a identificação de fungos foram incrementadas ao longo dos últimos anos e incluem a utilização da microscopia ótica e eletrônica, o desenvolvimento de meios de cultura seletivos e diferenciais, comparação de enzimas e metabólitos secundários, bem como mais recentemente o uso de tecnologias imunológicas e moleculares (Leal-Bertioli, 1998). Os critérios morfológicos são o primeiro passo na identificação das espécies de *Fusarium*, mas podem ser complementados com a utilização de métodos mais acurados como por exemplo, os baseados nas características genéticas.

Tabela 1. Ocorrência de algumas espécies de *Fusarium* de acordo com a sua forma de adaptação a diferentes ambientes climáticos (Burgess et al., 1994)

Ocorrência Geral	Ocorrência em Regiões de Clima Temperado	Ocorrência em Regiões Subtropicais e Tropicais
<i>F. chlamydosporum</i>	<i>F. acuminatum</i>	<i>F. beomiforme</i> ¹
<i>F. equiseti</i>	<i>F. avenaceum</i>	<i>F. compactum</i>
<i>F. moniliforme</i>	<i>F. crookwellense</i>	<i>F. decemcellulare</i> ¹
<i>F. oxysporum</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. longipes</i> ¹
<i>F. poae</i>	<i>F. graminearum</i>	
<i>F. semitectum</i>	<i>F. sambucinum</i>	
<i>F. solani</i>	<i>F. sporotrichioides</i>	
<i>F. subglutinans</i>		
<i>F. tricinctum</i>		

¹Ocorrência restrita a regiões tropicais úmidas.

Entre os hyphomycetes, o gênero *Fusarium* é um dos mais estudados, levando em consideração as afinidades das seções e estádios teleomórficos.

Para a taxonomia das espécies de *Fusarium* torna-se necessário a adoção de procedimentos básicos apropriados que incluem o uso de meios de cultura específicos, e condições de cultura; a forma dos macroconídios, forma e modo de produção dos microconídios, e formação de clamidosporos (presença ou ausência), são critérios consistentes e necessitam do uso de meios de cultura especiais, onde também a morfologia das culturas e taxas de crescimento são usadas na identificação (Burgess et al., 1994; Nelson et al., 1983).

O objetivo desta revisão é reunir as informações atualizadas e apresentar as principais técnicas utilizadas para a identificação das espécies do gênero *Fusarium* e seus segregados, discutindo exemplos da sua utilização, levando em consideração os fatores práticos e o custo, tendo sempre como primeiro passo o estudo morfológico.

HISTÓRICO DA EVOLUÇÃO TAXONÔMICA DO GÊNERO *FUSARIUM*

Apesar do grande número de estudos e trabalhos publicados não existe hoje um único sistema completo que possibilite a identificação das espécies de *Fusarium*, gênero criado por Link em 1809 (Carrera, 1975; Toussoun & Nelson, 1975; Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994). Todos os sistemas de taxonomia têm como base a publicação de Wollenweber & Reinking (1935), combinando as informações complementares de outros sistemas desenvolvidos e propostos até ao momento (Booth, 1971; Gerlach & Nirenberg, 1982; Joffe, 1974; Messiaen & Cassini, 1968; Snyder & Hansen, 1940; Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994) (Figura 1).

Wollenweber e Appel iniciaram em 1910 um trabalho com o objetivo de traçar as bases da classificação de *Fusarium* discutida em 1924 na conferência realizada em Madison (Wisconsin), com a participação de Reinking e Sherbakoff. Muitos trabalhos foram publicados entre 1910 e 1935, a maioria propondo uma ordem na descrição das diferentes espécies pertencentes ao gênero *Fusarium* (Carrera, 1975).

Em 1935 foi publicado o mais importante trabalho clássico sobre a taxonomia dos fungos do gênero *Fusarium*, amplamente ilustrado com desenhos, resultantes de aproximadamente 40 anos de pesquisa, organizando as espécies em 16 seções contendo 65 espécies, 55 variedades e 22 formas (Wollenweber & Reinking, 1935). Um conjunto de características foi usado para separar cada grupo e seções: 1) presença ou ausência de microconídios,

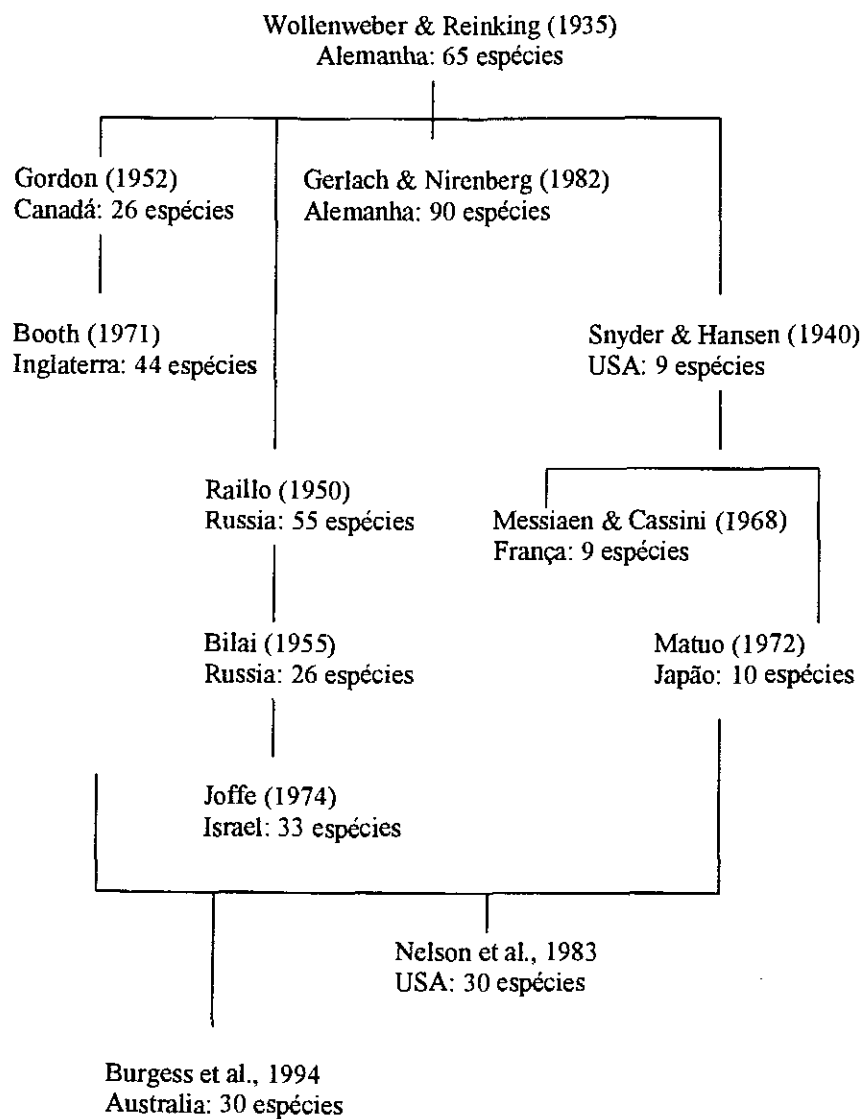


Figura 1. Principais sistemas taxonômicos para a identificação das espécies de *Fusarium* (adaptado de Nelson et al., 1983 e Burgess et al., 1994).

2) forma dos microconídios, 3) presença ou ausência de clamidosporos, 4) localização dos clamidosporos (terminais ou intercalares), 5) forma dos macroconídios, e 6) forma da célula basal dos macroconídios. As seções por sua vez foram divididas em espécies, variedades e formas, com base na cor dos estromas, presença ou ausência de esclerocios, número de septos e medidas (largura e comprimento) dos macroconídios. Este processo no entanto era complexo e variava com a utilização dos meios de cultura no qual o fungo era cultivado, tornando assim o processo pouco estável, e que podia ser alterado pelas condições ambientais de cultura (Nelson et al., 1983). Um outro problema da complexidade do sistema estava associado à variabilidade dos isolados, principalmente quando as culturas não eram monospóricas ou originadas de ponta de hifa.

Na década de 30, Snyder em colaboração com Hansen após os seus estudos no laboratório de Wollenweber em Berlin, foram pioneiros no uso de culturas monospóricas, publicando as suas idéias sobre a taxonomia do *Fusarium* (Snyder & Hansen, 1940, 1941, 1945). Neste sistema seriam consideradas, 9 espécies e 16 seções, baseando-se inicialmente na morfologia dos macronídios e na variabilidade das espécies, comparadas em condições idênticas de cultura (substrato e ambiente). Eles observaram que as repicagens de uma cultura única original, poderia ser classificada em diferentes espécies e seções, levando-se em consideração a separação proposta por Wollenweber & Reinking (1935). Neste sistema foi proposto também o uso da cor (pigmentação) no meio de cultura e a presença ou ausência de esporodóquios.

Com a grande redução do número de espécies houve a necessidade de reclassificar espécies que passaram a ser sinônimas, propondo posteriormente o uso da denominação de variedade e cultivar (Snyder et al., 1957; Nash & Snyder, 1965). O uso de cultivares no sistema proposto foi difícil de ser usado pela ausência de critérios acurados na descrição, gerando muitas dúvidas e dificuldades (Nelson et al., 1983).

No Canadá entre 1930 e 1960 Gordon investigou o gênero e uma série de trabalhos sobre sistemas taxonômicos, destacando-se a sua proposta de que algumas seções como *Lateritium*, *Liseola*, *Elegans* e *Martiella*, seriam modificadas, aceitando as propostas de revisão de Snyder & Hansen (1940), para *F. oxysporum*.

A importância da variabilidade dos isolados em função dos procedimentos de cultura ou mutações *in vitro*, foi estudada por Bilal (1970), usando isolados monospóricos em diferentes temperaturas, umidade, taxa e período de crescimento e composição dos meios de cultura, propondo com base nestes resultados a revisão da taxonomia do gênero para incluir 9 seções, 26 espécies e 29 variedades. Algumas alterações propostas não foram adequadamente compreendidas, como a combinação da seção *Liseola* com a seção *Elegans* e da seção *Gibbosum* com a seção *Discolor*, o que levou a não serem aceitas e usadas nos vários centros de pesquisa do mundo (Nelson et

al., 1983).

Joffe (1974), iniciou os trabalhos na Rússia, antiga URSS no final da década de 1940, seguindo as propostas da pesquisadora russa Raillo, tendo emigrado posteriormente para Israel onde continuou as pesquisas com *Fusarium* isolado de diferentes origens e regiões geográficas. A sua proposta da taxonomia das espécies do gênero *Fusarium* denominada de "sistema moderno" era semelhante ao de Wollenweber & Reinking (1935), reconhecendo 13 seções, 33 espécies e 14 variedades.

Booth (1971) modificou o sistema de Gordon, adicionando informações referentes às fases teleomórficas de algumas espécies realçando as informações sobre os conidióforos e células conidiogênicas, como importantes na taxonomia das espécies. A presença de polifiálides e monofiálides não eram consideradas como importantes na separação das seções e espécies. Neste sistema foi criado um elo de ligação entre os sistemas propostos pelos micologistas e fitopatologistas, para a identificação de *Fusarium*.

Messiaen & Cassini (1968) seguiram o sistema de Snyder e Hansen, com algumas modificações, destacando-se o uso de variedades botânicas no lugar de cultivares, a adoção do termo "forma especializada" (f.sp.) e de sub-espécies em *F. roseum*, apresentando descrições para cada variedade e uma chave para o sistema, com 9 espécies, 8 variedades e 89 f.sp.. O sistema proposto por Matuo (1972) também seguiu a proposta de Snyder e Hansen, apresentando uma chave para identificação mas que não teve grande aceitação.

Gerlach & Nirenberg (1982) continuaram o trabalho no laboratório de Wollenweber no Biologische Bundesanstalt, West Berlin, e publicaram um atlas com mais de 90 espécies, adequadamente ilustradas, tendo utilizado para o crescimento dos fungos os cinco meios de cultura usados no trabalho original. Novas espécies foram propostas partindo de culturas puras e, em alguns casos, com variações (mutações) dos isolados (Nelson et al., 1983). Consideraram válida a separação de *Fusarium* do gênero *Gerlachia*, que tem as células conidiogênicas anelídicas, não reconhecendo no entanto, a separação do gênero *Pseudofusarium* (Gerlach & Nirenberg 1982).

Selecionando o que consideraram melhor em cada sistema até então conhecido, Nelson et al. (1983), apresentaram uma nova proposta com base na experiência e utilidade prática de identificação. Os autores incorporaram informações dos conidióforos e células conidiogênicas principalmente dos microconídios como proposto por Booth (1971), mantendo as seções de Wollenweber e Reinking que continham espécies toxicogênicas importantes, como, *Sporotrichiella*, *Liseola*, *Roseum*, *Gibbosum*, *Discolor* e *Arthrosporiella*, além das seções *Eupionnotes*, *Spicarioides*, *Arachnites*, *Lateritium*, *Elegans* e *Martiella-Ventricosum*. O número de espécies foi reduzido e as variedades e formas foram reagrupadas

em novas espécies ou colocadas como sinonímia de outras já existentes, admitindo-se que muitas destas variedades eram variações culturais. Foram propostas 30 espécies, adequadamente descritas e ilustradas, ficando ainda 16 com documentação insuficiente.

A equipe do Laboratório de Pesquisas de *Fusarium*, da Universidade de Sydney, na Austrália, liderada pelo Dr. Burgess elaborou em 1988 um manual prático ilustrado, destinado à introdução da taxonomia de *Fusarium*, incluindo técnicas de isolamento e identificação das espécies. Trabalhos recentes levaram ao reconhecimento de 2 subespécies em *F. acuminatum* e 3 em *F. avenaceum*, bem como a inclusão de *F. dimerum*, *F. polyphialidicum* e *F. "babina"* nas chaves das espécies e a sinonímia de *F. graminum* com *F. heterosporum*, reconhecendo 30 espécies e 5 subespécies (Burgess et al., 1994).

Após 1968 passou-se a realizar, a cada 5 anos, a reunião do grupo internacional de trabalho com *Fusarium* (International *Fusarium* Workshops), realizada após os Congressos Internacionais de Patologia de Plantas (ICPP), tendo-se constituído um sub-comitê de sistemática (ISPP-Subcommittee on *Fusarium* Systematics), que em conjunto vem apresentando propostas na atualização da taxonomia das espécies, reduzindo a duplicação de trabalhos e prevenindo conflitos futuros na descrição das espécies.

Um banco de dados de *Fusarium* foi apresentado para especialistas em 1992 pela CBS (Centraalbureau voor Schimmelcultures). Uma versão "on-line" foi disponibilizada em 1997, mas ainda está sendo ajustada pelo grupo de trabalho de *Fusarium* da ISPP/ICTF.

Recentemente, evidências moleculares baseadas na análise de seqüências do DNA, têm mostrado que as seções Liseola e Dlamina não são monofiléticas, o que levou Nirenberg & O'Donnell (1998) a fazerem uma revisão na seção Liseola, principalmente no complexo do *G. fujikuroi*, propondo 29 espécies, sendo 10 descritas como novas. O uso de dados da sistemática molecular indicam existir pelo menos mais 8 espécies distintas filogeneticamente neste complexo, mas que necessitam ainda ser formalmente descritas (O'Donnell et al., 1998; Nirenberg & O'Donnell et al., 1998). O uso de alguns dados da biologia molecular dos isolados e a patogenicidade em hospedeiros, usados como critérios taxonômicos para separar espécies, não teve unanimidade entre os pesquisadores reunidos no "8th International *Fusarium* Workshop", realizado em agosto de 1998, em Eghan, na Inglaterra, devendo ser revista e discutida pelo subcomitê de sistemática de *Fusarium*.

A fase teleomórfica das espécies de *Fusarium* estão incluídas na Ordem Hypocreales, classes Euascomycetes e Pyrenomycetes que têm como característica a formação de peritécios geralmente, coloridos com parede peritecial flácida ou membranosa (Booth, 1971). Os ascospóros são usualmente de 1 a 3 septos incluindo os gêneros típicos *Nectria*, *Gibberella* e *Calonectria* (Tabela 2). Nestes gêneros os peritécios são superficiais podendo

Tabela 2. Seções e teleomorfos de espécies de *Fusarium* relacionados na literatura (adaptado de Gerlach, 1981; Nelson et al., 1983)

Seções	Teleomorfos		
	Wollenweber & Reinking (1935)	Gerlach (1981)	Booth (1981)
<i>Eupionnotes</i>	<i>Nectria</i>	<i>Nectria</i> , <i>Plectosphaerella</i>	-
<i>Episphaeria</i>	-	-	<i>Nectria</i>
<i>Macroconia</i>	<i>Nectria</i>	<i>Nectria</i>	-
<i>Coccophilum</i>	-	-	<i>Nectria</i> , <i>Calonectria</i>
<i>Spicarioides</i>	<i>Calonectria</i>	<i>Calonectria</i>	<i>Calonectria</i>
<i>Submicrocera</i>	<i>Calonectria</i>	<i>Calonectria</i>	-
<i>Pseudomicrocera</i>	<i>Calonectria</i>	<i>Calonectria</i>	-
<i>Arachnites</i>	<i>Calonectria</i>	<i>Calonectria</i> , <i>Monographella</i>	<i>Monographella</i> , <i>Plectosphaerella</i>
<i>Sporotrichiella</i>	?	?	?
<i>Roseum</i>	?	<i>Gibberella</i>	-
<i>Arthrosporiella</i>	?	?	<i>Gibberella</i>
<i>Gibbosum</i>	<i>Gibberella</i>	<i>Gibberella</i>	<i>Gibberella</i>
<i>Discolor</i>	<i>Gibberella</i>	<i>Gibberella</i>	<i>Gibberella</i>
<i>Lateritium</i>	<i>Gibberella</i>	<i>Gibberella</i>	<i>Gibberella</i>
<i>Liseola</i>	<i>Gibberella</i>	<i>Gibberella</i>	<i>Gibberella</i>
<i>Elegans</i>	?	?	?
<i>Martiella</i>	<i>Hypomyces</i>	<i>Nectria</i>	<i>Nectria</i>
<i>Ventricosum</i>	<i>Hypomyces</i>	<i>Nectria</i>	-

ter ou não estroma.

Booth (1971) usou *Micronectriella* para teleomorfa de *F. nivale*, *F. tabacinum* e *F. stoveri*, mas recentemente a proposta é de usar *Plectosphaerella* (Booth, 1981; Gerlach & Nirenberg, 1982). Wollenweber & Reinking (1935) reconheceram *Nectria*, *Calonectria*, *Gibberella* e *Hypomyces* como teleomórficos das espécies de *Fusarium*, que foi seguida por Snyder & Toussoun (1965) e por Messiaen & Cassini (1968).

Booth (1981) relatou *Nectria*, *Calonectria* e *Gibberella* como teleomórficos de *Fusarium*. Ele também usou a os gêneros *Plectosphaerella* e *Monographella* para espécies na seção Arachnites.

Gerlach & Nirenberg (1982) reconheceram *Nectria*, *Calonectria* e *Gibberella* como teleomórficos de espécies de *Fusarium*, sugerindo a inclusão de *Plectosphaerella* como teleomórfico de algumas espécies da seção Eupionnotes e *Monographella* para algumas espécies na seção Arachnites.

O gênero *Monographella* foi retirado como teleomorfo de *Fusarium*, pela ampla aceitação de que *F. nivale*, devido a sua conidiogenese não fialídica, ser acomodado em *Microdochium* (ou *Gerlachia*), e a classificação do teleomorfo em Hyponectriaceae (Gams & Nirenberg, 1989).

MEIOS DE CULTURA

Um grande número de meios de cultura têm sido desenvolvidos para o isolamento, crescimento e esporulação de espécies de *Fusarium*, destacando-se como padrões a Folha de Cravo-Ágar (CLA), Batata-Dextrose-Ágar (BDA) e o Solo-Ágar (SA), usados geralmente nos laboratórios para identificação das espécies (Burgess et al., 1994 e Nelson et al., 1983).

ÁGAR-ÁGUA (AA OU WA)

O meio Ágar-Água (2 %) conhecido também como WA (Water-Ágar) consiste de 20 g de agar e 1 litro de água, sendo recomendado como substrato para a germinação de conídios, usados no início de culturas monospóricas ou de ponta de hifa de *Fusarium*, uma vez que o crescimento micelial é esparsos, facilitando o isolamento e repicagem.

Em alguns casos recomenda-se o meio AA a 0,05% (0,5 g de agar em 1 litro de água), para realizar séries de diluições de solo. A pequena quantidade de agar, reduz a sedimentação dos propágulos do fungo presentes no solo.

FOLHA-DE-CRAVO-ÁGAR (FCA OU CLA)

Este meio usa, como substrato natural, pedaços de folha de cravo, que após esterilizados são colocados em placas de Petri (aproximadamente 1 pedaço de folha para cada 2 ml de ágar), vertendo-se sobre eles Ágar-Água a 2 %.

Os pedaços de folhas de cravo são obtidos de folhas frescas, sadias e sem resíduos de pesticidas. Imediatamente após colhidas as folhas são cortadas em pedaços de 5 a 8 mm. que devem ser secos em estufa de secagem com temperatura próxima de 70 °C por 3 a 4 horas. Os pedaços de folhas podem também ser secos em fornos de microondas (Burgess et al., 1994).

As folhas secas são então empacotadas em cartuchos de alumínio ou policarbonato e esterilizados por radiação gama (2,5 megarads), podendo então ser armazenados a 2 a 5 °C por até 12 meses.

Um grande número de espécies de *Fusarium* esporula no meio FCA em 6 a 10 dias, apresentando neste meio de cultura os conídios com formas uniformes e nítidas o que não acontece no meio de cultura BDA. Os macroconídios são formados em esporodóquios que usualmente se desenvolvem sobre os pedaços de folhas, o que é importante na identificação das espécies, enquanto que os microconídios formam-se nas hifas sobre o ágar. O modo de formação dos microconídios, a presença de cadeias e a formação de clamidósporos podem ser observados diretamente com microscópio óptico.

Alguns teleomorfos como *Gibberella zeae* (Schw.) Petch (anamorfa = *Fusarium graminearum* grupo 2) e culturas homotáticas de *Nectria haematococca* Berk. & Br. (anamorfa = *Fusarium solani*), formam peritécios neste meio de cultura, quando incubado em condições de luminosidade constante.

KCL-ÁGAR

Prepara-se este meio com a adição de 4 a 8 g/l de KCl em meio Ágar-Água (AA) ou Folha de Cravo-Ágar (FCA), sendo importante para realçar o número e comprimento das cadeias dos microconídios, sendo facilmente observadas quando existe pouca umidade na superfície do ágar, em culturas com 4 a 5 dias de idade, realçando também a presença de monofiálides ou polifiálides.

V8-ÁGAR (V8 - A)

Prepara-se com uma suspensão de suco V8 (Campbell's Soups Pty Ltd) a 30% (v/v), contendo 2% de ágar. Após a adição do ágar o pH do meio deve ser ajustado para 5,5 a 6,5 com NaOH, a 1,0 M.

Este meio tem sido usado para estimular e promover a produção de peritécios em *Nectria* e *Gibberella*.

BATATA-DEXTROSE-ÁGAR (BDA)

O BDA é um meio rico em carboidratos, contendo 20 g de dextrose, 20 g de ágar e o caldo resultante de 250 g de batatas em 1 litro de água. As batatas devem ser lavadas, não havendo necessidade de serem descascadas, cortadas em pedaços e cozidas até amolecem. Após o cozimento o caldo deve ser filtrado através de gaze para evitar a presença de sedimentos no caldo. Existem no mercado formulações prontas deste meio de cultura.

Apesar de ocorrer em algumas espécies no meio BDA, variabilidade na forma e tamanho dos conídios, o que é limitante para a taxonomia, a morfologia, pigmentação e taxa de crescimento das culturas são uniformes, sendo estas características critérios complementares para a taxonomia das espécies do gênero *Fusarium*.

O meio BDA também é muito útil para o isolamento de espécies de *Fusarium*, recomendando-se neste caso, reduzir em 50 a 75 % a dextrose e adicionar antibióticos como o cloranfenicol e o sulfato de estreptomicina.

SOLO-ÁGAR (SA)

O meio prepara-se pela adição de 500 g de solo seco e peneirado e 15 g de ágar para 1 litro de água. A quantidade de solo a ser usada pode ser alterada de acordo com o tipo de solo.

Este meio estimula a formação de clamidósporos, que são um importante critério na identificação das espécies de *Fusarium*. Em algumas espécies têm-se observado intensa formação de clamidósporos em meio SA preparado com 250 g de argila negra. O meio após autoclavado, deve ser agitado ao ser vertido nas placas de Petri, para garantir uma adequada distribuição das partículas.

PEPTONA PCNB ÁGAR (PPA OU MEIO NASH - SNYDER)

É um meio seletivo para o isolamento de *Fusarium*, sendo composto de uma parte básica à qual se adicionam posteriormente antibióticos e fungicidas. Inibe o crescimento de um grande número de fungos e bactérias, permitindo no entanto o crescimento de *Fusarium* em pequenas colônias de aproximadamente 5 a 10 mm de diâmetro, após 5 a 7 dias.

Meio básico em 1 litro de água:

Ágar	20,0 g
Peptona	15,0 g
KH ₂ PO ₄	1,0 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5 g
PCNB (75%)	1,0 g

O meio básico deve ser autoclavado e quando atingir a temperatura aproximada de 50-55°C, deve-se adicionar 10 ml de água destilada esterilizada contendo 1,0 g de sulfato de estreptomicina e 0,12 g de sulfato de neomicina, para reduzir o crescimento de bactérias Gram negativas e Gram positivas, respectivamente.

As placas preparadas devem "descansar" por algum tempo em lugar fresco e escuro, antes de serem usadas, uma vez que ao usar-se uma suspensão de solo, a água seja rapidamente absorvida pelo meio. As culturas isoladas neste meio devem ser repicadas para outros meios de cultura para os procedimentos de identificação. As culturas não devem ser mantidas no meio PPA, uma vez que o metabolismo da peptona leva ao acúmulo de amônia tóxica.

ÁGAR SELETIVO DE *FUSARIUM* (ASF ou SFA)

Também conhecido como SFA é um meio de cultura seletivo, usado para o isolamento de *Fusarium* em fragmentos e resíduos no solo, sendo uma modificação do meio Czapeck - Dox, contendo antibióticos e fungicidas.

Meio básico para 1 litro de água:

Ágar	20,0 g
Dextrose	20,0 g
KH ₂ PO ₄	0,5 g
NaNO ₃	2,0 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5 g
Extrato de Levedura	1,0 g
FeSO ₄ .7H ₂ O(sol.1%)	1,0 ml

Após a autoclavagem e quando atingir aproximadamente 50-55°C, devem-se adicionar os antibióticos e fungicida em 10 ml de água destilada esterilizada: 0,1 g sulfato de estreptomicina, 13 mg dicloran (2,6-dicloro-4-nitroaniline) na formulação comercial de Allisan (pode ser substituído por 1,0 g PCNB (a 75%)) e 0,01 g sulfato de neomicina.

É um meio menos inibidor que o PPA para muitos fungos, não sendo adequado para o isolamento de *Fusarium* a partir de suspensões de solo.

VERDE MALAQUITA ÁGAR (VMA)

O Verde Malaquita Agar (VMA) é um meio de cultura seletivo para o isolamento e contagem de colônias de espécies de *Fusarium*, sendo considerado superior ao PPA, evitando o uso do fungicida PCNB, ao qual têm sido atribuídas propriedades cancerígenas (Castellá et al., 1997).

O meio é preparado tendo como base a composição do meio PPA ou Nash-Snyder, substituído o PCNB por 2,5 ppm de Verde Malaquita (Castellá et al., 1997). O Verde Malaquita já vinha sendo usado em outros meios de cultura para *Fusarium* spp, mas com concentrações muito altas (15 a 50 ppm), demonstrando a sua eficiência na composição dos meios de cultura (Papavizas, 1967; McMullen & Stack, 1983).

DICLORAN CLORANFENICOL PEPTONA ÁGAR (DCPA)

É um meio de cultura seletivo para o isolamento de *Fusarium* e algumas espécies de Dematiaceae principalmente em grãos de cereais. O meio básico para 1 litro de água destilada contém: agar 20,0 g, peptona 15,0 g, K_2HPO_4 1,0 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5 g e cloranfenicol 0,2 g. Após a autoclavagem adiciona-se dicloran 0,002 g, diluído em 10 ml de etanol.

Tem sido usado na identificação de espécies de *Fusarium* mas o crescimento do micélio aéreo é mais esparso que no FCA, com uma menor produção de microconídios. O DCPA não deve ser usado como meio de manutenção das culturas devido ao metabolismo da peptona que leva ao acúmulo de amônia tóxica. Os fungos Mucoraceos são inibidos pelo dicloran, e a ausência de fonte de carboidratos é seletivo para espécies de *Aspergillus* e *Penicillium*.

NUTRIENTE SINTÉTICO ÁGAR (NSA OU SNA)

É um meio de cultura usado por alguns pesquisadores para os estudos de taxonomia das espécies e observação microscópica das estruturas dos isolados de *Fusarium* (Nirenberg & O'Donnell, 1998).

Composição do meio de cultura para 1 litro de água: 1,0 g de KH_2PO_4 ; 1,0 g KNO_3 ; 0,5 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,5 g de KCl; 0,2 g de dextrose; 0,2 g de sacarose; 0,6 ml de NaOH solução 1N; e 23,0 g de ágar. Após a autoclavagem e distribuído nas placas, deve-se distribuir sobre a superfície do ágar esfriado, pedaços de papel de filtro esterelizado, com aproximadamente 1 x 2 cm.

MEIO KOMADA (MK)

Recomendado para o isolamento seletivo de *Fusarium oxysporum*

do solo, que apresenta uma pigmentação característica das colônias.

O meio básico para 1 litro de água destilada contém: K_2HPO_4 1,0 g, KCl 0,5 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5 g, F_3Na EDTA 0,01 g, L – asparagina 2,0 g, D – galactose 20,0 g e ágar 15,0 g, sendo autoclavado (121°C por 15 minutos). Após esfriado para aproximadamente 55°C adicionam-se os agentes antimicrobianos em 10 ml de água destilada esterelizada: PCNB (75%) 1,0 g, Oxgall 0,5 g, $Na_2B_4O_7 \cdot 10 H_2O$ 1,0 g e sulfato de estreptomicina 0,3 g. O pH deve ser ajustado para 3,8 ($\pm 0,2$) com ácido fosfórico a 10%.

PROCEDIMENTOS DE CULTIVO

As características morfológicas são básicas para a identificação e taxonomia das espécies de *Fusarium*, sendo influenciadas pelas condições do ambiente que devem ser controladas para minimizar as variações.

INCUBAÇÃO

A esporulação e a pigmentação são favorecidas pela luz, incluindo os comprimentos de onda ultra violeta e próximo ao ultra-violeta – NUV (Burgess et al., 1994; Snyder & Hansen, 1941b, 1947). Normalmente as culturas para identificação são incubadas em regimes de temperaturas alternadas de 25°C/luz e 20°C/escuro, com fotoperíodo de 12 horas. As culturas devem ficar a uma distância de aproximadamente 40 cm das lâmpadas de 40 W x fluorescentes ou 36 W luz negra (Philips TL 36 W/80 RS F40 BLB).

CULTURAS MONOCONIDIAIS E DE PONTA DE HIFA

Para a identificação das espécies, as culturas do fungo devem ser puras e para isso iniciadas a partir de um único conídio ou de uma ponta de hifa. A técnica foi desenvolvida inicialmente por Hansen & Smith (1932) e recentemente aprimorada e descrita por Burgess et al. (1994), preparando-se uma suspensão de conídios em 10 ml de água destilada esterilizada, em tubo de ensaio, usando-se preferencialmente macroconídios obtidos de esporodóquios, no sentido de se ter uma concentração aproximada de 1 a 10 conídios por gota.

Algumas gotas da suspensão, são espalhadas na superfície de meio de cultura AA (com pelo menos 7 dias após a distribuído em placas de Petri, para absorver a água), sendo as placas incubadas em posição inclinada (30 a 40°), no escuro a 25°C por 18 a 20 horas. Após este tempo, é feita a observação ao microscópio e, os conídios isolados e germinados são removidos com um pedaço de ágar, usando-se uma agulha ou estilete

esterelizado, repicando-se para o meio de cultura desejado. Havendo a suspeita de contaminação da cultura original por bactérias, recomenda-se a adição de antibióticos ao meio de cultura AA ou adicionar à suspensão de conídios uma gota de ácido láctico a 25%, para inibir o crescimento bacteriano, 10 minutos antes de “semear” nas placas (Burgess et al. 1994).

A ponta de hifa é normalmente usada para iniciar culturas de algumas espécies como *F. longipes*, que frequentemente apresentam variação cultural mesmo quando provenientes de conídios. Neste caso, deve-se usar o micélio de uma cultura desenvolvida em FCA, para iniciar o crescimento do fungo no meio AA, que deve ser distribuído em placas de Petri (com aproximadamente 1 mm). A ponta de uma hifa isolada deve ser cortada, seguindo-se o mesmo procedimento usado para transferir os conídios nas culturas monoconidiais.

VARIAÇÃO DAS CULTURAS (DEGENERACÃO)

As variações culturais em *Fusarium* são muito comuns e as culturas com variações (degenerações) que diferem morfológica e fisiologicamente, devem ser descartadas (Toussoun & Nelson, 1975). Em alguns casos a patogenicidade é perdida, dificultando a identificação da f. sp. e estudos das doenças, não havendo no entanto evidências de que a produção de micotoxinas seja afetada.

Existem dois tipos principais de degeneração nas culturas de *Fusarium* (Burgess et al., 1994): o tipo pinotal onde as culturas tornam-se viscosas, com ausência de micélio aéreo e produção de macroconídios que podem apresentar distorções. A outra variação é o tipo micelial que consiste na produção de micélio aéreo estéril, frequentemente de cor branca. Em ambos os casos não tem sido possível recuperar a cultura original repicando as variantes.

A ocorrência de variantes culturais é mais frequente em algumas espécies, podendo ser estimulada pelas frequentes repicagens (subculturas) de micélio aéreo para meios ricos em carboidratos. Pode-se minimizar o problema usando meios de cultura naturais ou pouco nutritivos, como FCA ou AA, usando culturas monoconidiais ou de ponta de hifa (Burgess et al., 1994).

FORMAÇÃO DE CLAMIDÓSPOROS

A presença de clamidósporos é de fundamental importância não só no ciclo de vida do fungo mas também para a identificação das espécies de *Fusarium*. Algumas não formam clamidósporos, enquanto que outras raramente os formam em meio de cultura, mas geralmente induzem a sua formação quando em contato com extrato de solo (Meyers & Cook, 1972), ou em meios pobres em nutrientes como o SA e FCA (Burgess et al., 1994). Os

clamidósporos também são induzidos quando o fungo cresce em meio líquido com pH baixo e incubando os macroconídios em água, ou quando as culturas do fungo são lavadas. A ausência de açúcares no meio de cultura também promove a formação dos clamidósporos (Meyers & Cook, 1972).

No Laboratório de Fitopatologia da EMCAPA, tem sido usada com sucesso uma técnica para a obtenção de clamidósporos que consiste em deixar o fungo crescer completamente em placas de Petri com BDA ou um outro meio de cultura, preferencialmente pobre em açúcares. Sobre a cultura, cobrindo-a completamente, coloca-se uma camada com aproximadamente 1 mm, de solo ou sub-solo, previamente peneirado, vertendo-se sobre este uma suspensão de PCNB ($1,0 \text{ g l}^{-1}$), sulfato de estreptomicina ($300 \text{ } \mu\text{g ml}^{-1}$) e cloranfenicol ($200 \text{ } \mu\text{g ml}^{-1}$), com a finalidade de umedecer o solo e difundir os extratos no meio de cultura impedindo simultaneamente o crescimento de bactérias e fungos. As placas são incubadas a 25°C por 2 ou mais dias (para a produção de inóculo deve-se aguardar 8 a 10 dias), retirando-se o solo das placas com o auxílio de um jato de água destilada e esterilizada. A formação de clamidósporos é observada ao microscópio (10x), diretamente na placa ou fazendo a montagem em lâminas de microscopia. Para a preparação de inóculo, o meio de cultura das placas é triturado em liquidificador com alta rotação por 1 a 2 minutos, adicionando-se previamente no copo do liquidificador, aproximadamente 30 ml de água destilada esterilizada para cada placa. O material triturado é centrifugado a 2000 rpm por 2 a 5 minutos, recolhendo-se o sobrenadante para contagem dos clamidósporos e preparação de inóculo, podendo neste caso, serem adicionados a areia lavada sem detritos, (tratada com ácido sulfúrico e lavada com água destilada), fazendo-se a distribuição uniforme e secagem a 35 a 40°C , para armazenamento em geladeira.

INDUÇÃO DE PERITÉCIOS

Algumas espécies de *Fusarium* podem formar a fase teleomórfica e produzem grande quantidade de peritécios em meio de cultura FCA, enquanto que outras heterotáticas, necessitam de pareamento, e um grande número de espécies não produzem peritécios em meio de cultura. Substratos naturais geralmente estimulam a formação de peritécios, destacando-se os pedaços de folha de cravo, trigo e V8-ágar (Burgess et al., 1994). Alguns pesquisadores têm usado nos estudos de compatibilidade sexual e indução de peritécios o meio de Cenoura-Ágar (CA) constituído de 5% (v/v) de suco de cenouras frescas e 2,3% de agar (Nirenberg & O'Donnell, 1998).

Culturas heterotáticas de *F. solani* f. sp. *piperis*, *F. solani* f. sp. *cucurbitae* raça 2 (= *Nectria haematococca*) e *F. subglutinans* (= *Gibberella subglutinans*), produzem peritécios quando cultivadas em tubos de ensaio com meio V8-A inclinado e incubadas no escuro, a 25°C , por 14 dias. Após

este período, as culturas devem ser incubadas por 48 horas com luz (pode-se usar NUV), sendo feita a espermatização, vertendo-se sobre elas a suspensão de conídios da cultura compatível (doadora), que cresceu sob luz constante. Os tubos devem então ser incubados sob luz constante com flutuação de temperaturas variando de 10° a 25°C por 14 dias ou até o aparecimento dos peritécios.

No laboratório de pesquisa de *Fusarium*, da University of Sydney, (Burgess et al., 1994), é usada uma técnica que consiste em cortar pequenos pedaços de palha de trigo, amarrando-os em feixes de seis, colocando-os em frascos de 150 ml contendo 20 ml de água de torneira. Após a autoclavagem por 20 minutos os feixes de palha de trigo são inoculados com discos de meio de cultura do fungo com aproximadamente 5 mm, sendo um para cada feixe, incubando-se a 25°C/luz e 20°C/escuro, com fotoperíodo de 12 horas. Os peritécios são produzidos após 8 a 10 semanas, tendo esta técnica apresentado excelentes resultados para *Gibberella gordonii* Booth (*F. heterosporum*).

ESPÉCIES DE *FUSARIUM* RELATADAS NO BRASIL

As espécies de *Fusarium* relatadas no Brasil, são principalmente de importância fitopatológica e foram descritas na literatura publicada entre 1933 e 1996 (Mendes et al., 1998; Liberato et al., 1996); são apresentadas em ordem alfabética, seguidas do nome científico de plantas hospedeiras (Tabela 3). Esta lista deve ser atualizada no futuro, com as espécies válidas e à medida que novas espécies forem identificadas e registradas.

Tabela 3. Espécies de *Fusarium* e teleomórficos relatadas no Brasil e seus hospedeiros (adaptado de Mendes et al., 1998 e Liberato et al., 1996)

<i>Fusarium acuminatum</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>
<i>Capsicum annum</i>	<i>Oryza sativa</i>
<i>Hordeum vulgare</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>
<i>Triticum aestivum</i>	<i>Pisum sativum</i>
<i>Fusarium anthophilum</i>	<i>Triticum aestivum</i>
<i>Bactris gasipaes</i>	<i>Vigna unguiculata</i>
<i>Fusarium aquaeductuum</i>	<i>Vitis spp.</i>
<i>Glycine max</i>	<i>Vitis vinifera</i>
<i>Manihot utilisima</i>	<i>Zea mays</i>
<i>Fusarium avenaceum</i>	<i>Fusarium eumartii</i>
<i>Dianthus caryophyllus</i>	<i>Solanum tuberosum</i>
<i>Hordeum vulgare</i>	<i>Fusarium graminearum</i>
<i>Solanum tuberosum</i>	<i>Avena sp.</i>
<i>Trifolium pratense</i>	<i>Brachiaria brizantha</i>
<i>Triticum aestivum</i>	<i>Brachiaria plantagineo</i>
<i>Fusarium caeruleum</i>	<i>Brachiaria ruziziensis</i>
<i>Solanum tuberosum</i>	<i>Digitaria sanguinalis</i>
<i>Fusarium chlamydosporum</i>	<i>Echinochloa crusgalli</i>
<i>Chrysanthemum spp.</i>	<i>Hordeum vulgare</i>
<i>Ficus carica</i>	<i>Oryza sativa</i>
<i>Glycine max</i>	<i>Pennisetum purpureum</i>
<i>Gossypium hirsutum</i>	<i>Richardia brasiliensis</i>
<i>Lactuca sativa</i>	<i>Secale cereale</i>
<i>Fusarium coffeicola</i>	<i>Sorghum bicolor</i>
<i>Coffea arabica</i>	<i>Triticum aestivum</i>
<i>Fusarium concolor</i>	<i>Triticum secale</i>
<i>Coffea arabica</i>	<i>Vigna unguiculata</i>
<i>Glycine max</i>	<i>Zea mays</i>
<i>Gossypium hirsutum</i>	<i>Fusarium heterosporum</i>
<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Glycine max</i>
<i>Asparagus officinalis</i>	<i>Paspalum sp.</i>
<i>Glycine max</i>	<i>Triticum aestivum</i>
<i>Gossypium hirsutum</i>	<i>Fusarium javanicum</i>
<i>Fusarium decemcellulare</i>	<i>Crotalaria juncea</i>
<i>Cordia alliodora</i>	<i>Cucurbita spp.</i>
<i>Cordia goeldiana</i>	<i>Fusarium larvarum</i>
<i>Mangifera indica</i>	<i>Glycine max</i>
<i>Paullinia cupana</i>	<i>Gossypium hirsutum</i>
<i>Psidium guajava</i>	<i>Fusarium lateritium</i>
<i>Theobroma cacao</i>	<i>Glycine max</i>
<i>Fusarium equiseti</i>	<i>Ipomoea batatas</i>
<i>Allium cepa</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>
<i>Beta vulgaris</i>	<i>Sorghum bicolor</i>
<i>Chenopodium quinoa</i>	<i>Urena lobata</i>
<i>Chrysanthemum spp.</i>	<i>Fusarium lateritium</i> subsp. <i>lateritium</i>
<i>Coffea arabica</i>	<i>Coffea arabica</i>
<i>Crotalaria juncea</i>	<i>Fusarium lateritium</i> var. <i>buxi</i>
<i>Glycine max</i>	<i>Glycine max</i>
<i>Gossypium hirsutum</i>	<i>Fusarium lateritium</i> var. <i>mori</i>
<i>Hordeum vulgare</i>	<i>Morus sp.</i>

Continuação Tabela 3

<i>Fusarium merismoides</i>	<i>Capsicum annuum</i>
<i>Lycopersicon esculentum</i>	<i>Chrysanthemum</i> spp.
<i>Fusarium moniliforme</i>	<i>Citrus</i> spp.
<i>Ananas comosus</i>	<i>Coffea arabica</i>
<i>Arachis hypogaea</i>	<i>Colocasia esculenta</i>
<i>Asparagus officinalis</i>	<i>Elaeis guineensis</i>
<i>Beta vulgaris</i>	<i>Glycine max</i>
<i>Bactris gasipaes</i>	<i>Gossypium hirsutum</i>
<i>Capsicum annuum</i>	<i>Gossypium hirsutum</i> var. <i>hirsutum</i>
<i>Carica papaya</i>	<i>Hordeum vulgare</i>
<i>Coffea arabica</i>	<i>Ipomoea batatas</i>
<i>Crotalaria juncea</i>	<i>Lactuca sativa</i>
<i>Glycine max</i>	<i>Lupinus albus</i>
<i>Gossypium hirsutum</i>	<i>Lupinus angustifolius</i>
<i>Helianthus annuus</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>
<i>Hevea</i> spp.	<i>Musa paradisiaca</i>
<i>Hordeum vulgare</i>	<i>Musa</i> sp.
<i>Musa paradisiaca</i>	<i>Oryza sativa</i>
<i>Oryza sativa</i>	<i>Passiflora edulis</i>
<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Phaseolus lunatus</i>
<i>Pinus ellioti</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>
<i>Ricinus communis</i>	<i>Pinus caribae</i>
<i>Saccharum officinarum</i>	<i>Pinus ellioti</i>
<i>Sorghum bicolor</i>	<i>Pinus taeda</i>
<i>Sorghum</i> spp.	<i>Piper nigrum</i>
<i>Sorghum vulgare</i>	<i>Pisum sativum</i>
<i>Triticum aestivum</i>	<i>Ricinus communis</i>
<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Solanum tuberosum</i>
<i>Zea mays</i>	<i>Sorghum bicolor</i>
<i>Fusarium moniliforme</i> var. <i>anthophilum</i>	<i>Stevia rebaudiana</i>
<i>Tabebuia impetiginosa</i>	<i>Triticum aestivum</i>
<i>Vitis vinifera</i>	<i>Vigna unguiculata</i>
<i>Fusarium moniliforme</i> var. <i>intermedium</i>	<i>Vitis</i> spp.
<i>Chrysanthemum</i> spp.	<i>Vitis vinifera</i>
<i>Fusarium orthoceras</i>	<i>Zea mays</i>
<i>Ricinus communis</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>batatas</i>
<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Ipomoea batatas</i>
<i>Abelmoschus esculentus</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cattleyae</i>
<i>Allium cepa</i>	<i>Orchidaceae</i>
<i>Allium sativum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepa</i>
<i>Ananas comosus</i>	<i>Allium cepa</i>
<i>Apocactus flagelliformis</i>	<i>Allium fistulosum</i>
<i>Arachis burchellii</i>	<i>Allium sativum</i>
<i>Arachis hypogaea</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>
<i>Arachis tuberosa</i>	<i>Cicer arietinum</i>
<i>Asparagus officinalis</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>coffea</i>
<i>Baccharis</i> sp.	<i>Coffea arabica</i>
<i>Bixa orellana</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>conglutinans</i>
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i>	<i>Brassica oleracea</i>
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i>
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>
<i>Buxus</i> sp.	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>

Continuação Tabela 3

<i>Brassica</i> spp.	<i>Gossypium</i> spp.
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>sesami</i>
<i>Musa paradisiaca</i>	<i>Sesamum indicum</i>
<i>Musa</i> cvs. (AAB; AAA; AAAB)	<i>Fusarium pallidoroseum</i>
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cucumerinum</i>	<i>Capsicum annuum</i>
<i>Cucumis sativus</i>	<i>Coffea arabica</i>
<i>Cucurbita</i> spp.	<i>Glycine max</i>
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cyclaminis</i>	<i>Gossypium hirsutum</i>
<i>Cyclamen persicum</i>	<i>Helianthus annuus</i>
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>dianthi</i>	<i>Lupinus albus</i>
<i>Dianthus caryophyllus</i>	<i>Oryza sativa</i>
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>elaeidis</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>
<i>Elaeis guineensis</i>	<i>Pinus eliatti</i>
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>herbemontis</i>	<i>Ricinus communis</i>
<i>Vitis</i> spp.	<i>Sorghum bicolor</i>
<i>Vitis vinifera</i>	<i>Sorghum</i> spp.
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lupini</i>	<i>Triticum aestivum</i>
<i>Lupinus</i> spp.	<i>Vigna unguiculata</i>
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	<i>Fusarium poae</i>
<i>Capsicum annuum</i>	<i>Glycine max</i>
<i>Lycopersicon esculentum</i>	<i>Gossypium hirsutum</i>
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>medicaginis</i>	<i>Hordeum vulgare</i>
<i>Medicago sativa</i>	<i>Fusarium roseum</i>
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>melanis</i>	<i>Ananas</i> spp.
<i>Cucumis melo</i>	<i>Arachis hypogaea</i>
<i>Cucurbita</i> spp.	<i>Asparagus officinalis</i>
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>nicotianae</i>	<i>Coffea arabica</i>
<i>Nicotiana tabacum</i>	<i>Cucumis melo</i>
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i>	<i>Daucus carota</i>
<i>Citrullus lanatus</i>	<i>Dianthus caryophyllus</i>
<i>Cucumis melo</i>	<i>Glycine max</i>
<i>Cucurbita</i> spp.	<i>Lycopersicon esculentum</i>
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>passiflorae</i>	<i>Musa paradisiaca</i>
<i>Passiflora edulis</i>	<i>Musa</i> sp.
<i>Passiflora edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	<i>Passiflora edulis</i>
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>
<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Urena lobata</i>
<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Vigna unguiculata</i>
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>pisi</i>	<i>Zea mays</i>
<i>Pisum sativum</i>	<i>Fusarium roseum</i> var. <i>arthrosporioides</i>
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>raphani</i>	<i>Vigna unguiculata</i>
<i>Raphanus sativus</i>	<i>Fusarium sacchari</i>
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ricini</i>	<i>Ananas comosus</i>
<i>Ricinus communis</i>	<i>Mangifera indica</i>
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>tracheiphilum</i>	<i>Fusarium sambucinum</i> subsp. <i>coeruleum</i>
<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Glycine max</i>
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>	<i>Gossypium hirsutum</i>
<i>Abelmoschus esculentus</i>	<i>Fusarium semitectum</i>
<i>Capsicum annuum</i>	<i>Glycine max</i>
<i>Capsicum</i> spp.	<i>Fusarium setosum</i>
<i>Dolichos lab-lab</i>	<i>Palmae (Arecaceae)</i>
<i>Gossypium hirsutum</i>	<i>Fusarium solani</i>

Continuação Tabela 3

<i>Abelmoschus esculentus</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>
<i>Allium cepa</i>	<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>piperis</i>
<i>Allium sativum</i>	<i>Piper attenuatum</i>
<i>Anacardium occidentale</i>	<i>Piper nigrum</i>
<i>Ananas</i> spp.	<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>lisi</i>
<i>Arachis hypogaea</i>	<i>Pisum sativum</i>
<i>Asparagus officinalis</i>	<i>Fusarium solani</i> var. <i>anthophilum</i>
<i>Beta vulgaris</i>	<i>Vitis</i> spp.
<i>Bactris gasipaes</i>	<i>Fusarium</i> sp.
<i>Capsicum annum</i>	<i>Abelmoschus esculentus</i>
<i>Capsicum</i> spp.	<i>Allium cepa</i>
<i>Chrysanthemum</i> spp.	<i>Allium sativum</i>
<i>Coffea arabica</i>	<i>Anacardium occidentale</i>
<i>Colocasia esculenta</i>	<i>Annona muricata</i>
<i>Cucumis sativus</i>	<i>Anthurium</i> spp.
<i>Daucus carota</i>	<i>Arachis marginata</i>
<i>Glycine max</i>	<i>Arracacia xanthorrhiza</i>
<i>Gossypium hirsutum</i>	<i>Aspidosperma ramiflorum</i>
<i>Hevea</i> spp.	<i>Aster</i> sp.
<i>Hibiscus sabdariffa</i>	<i>Astronium urundeuva</i>
<i>Lycopersicon esculentum</i>	<i>Bauhinia variegata</i> var. <i>variegata</i>
<i>Manihot esculenta</i>	<i>Bixa orellana</i>
<i>Musa paradisiaca</i>	<i>Brachiaria decumbens</i>
<i>Nopalea cochenillifera</i>	<i>Brachiaria humidicola</i>
<i>Oryza sativa</i>	<i>Brachiaria ruziziensis</i>
<i>Passiflora edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	<i>Brassica napus</i>
<i>Phaseolus lunatus</i>	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>acephala</i>
<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>
<i>Piper nigrum</i>	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>
<i>Pisum sativum</i>	<i>Brosimum gaudichaudii</i>
<i>Ricinus communis</i>	<i>Cajanus cajan</i>
<i>Solanum tuberosum</i>	<i>Callistephus</i> sp.
<i>Sorghum bicolor</i>	<i>Capsicum</i> spp.
<i>Triticum aestivum</i>	<i>Carica papaya</i>
<i>Urena lobata</i>	<i>Centrosema pubescens</i>
<i>Vigna sinensis</i>	<i>Chenopodium ambrosioides</i>
<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Citrullus lanatus</i>
<i>Vitis vinifera</i>	<i>Coffea arabica</i>
<i>Zea mays</i>	<i>Corchorus capsularis</i>
<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>cucurbitae</i>	<i>Cucumis melo</i>
<i>Citrullus lanatus</i>	<i>Cucumis sativus</i>
<i>Cucumis melo</i>	<i>Cucurbita</i> sp.
<i>Cucurbita</i> spp.	<i>Dipteryx alata</i>
<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>eumartii</i>	<i>Elaeis guineensis</i>
<i>Solanum tuberosum</i>	<i>Eucalyptus grandis</i>
<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>hibisci</i>	<i>Eucalyptus saligna</i>
<i>Abelmoschus esculentus</i>	<i>Euterpe edulis</i>
<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>glycines</i>	<i>Ficus benjamina</i>
<i>Glycine max</i>	<i>Ficus carica</i>
<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	<i>Fragaria</i> spp.
<i>Lycopersicon esculentum</i>	<i>Glycine max</i>
<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>phaseoli</i>	<i>Gossypium herbaceum</i>

Continuação Tabela 3

<i>Helianthus annuus</i>	<i>Carica papaya</i>
<i>Hibiscus manihot</i>	<i>Cedrela odorata</i>
<i>Hevea brasiliensis</i>	<i>Cenchrus echinatus</i>
<i>Ilex paraguariensis</i>	<i>Chenopodium quinoa</i>
<i>Ipomoea batatas</i>	<i>Chrysanthemum</i> spp.
<i>Lupinus</i> spp.	<i>Citrus limonia</i>
<i>Mangifera indica</i>	<i>Cocos nucifera</i>
<i>Musa</i> cvs. (AAB)	<i>Coffea arabica</i>
<i>Oryza sativa</i>	<i>Cardia goeldiana</i>
<i>Panicum maximum</i>	<i>Crotalaria juncea</i>
<i>Panicum</i> sp.	<i>Cucurbita</i> spp.
<i>Persea americana</i>	<i>Cyomopsis tetraganotoba</i>
<i>Piptadenia macrocarpa</i>	<i>Daucus carota</i>
<i>Pogostemon heyneanus</i>	<i>Dioscorea</i> spp.
<i>Prosopis juliflora</i>	<i>Eucalyptus deglupta</i>
<i>Prunus persica</i>	<i>Eucalyptus</i> spp.
<i>Pueraria javanica</i>	<i>Eucalyptus urophylo</i>
<i>Schinus malle</i>	<i>Euterpe oleracea</i>
<i>Scleralabium paniculatum</i>	<i>Golinsaga parviflora</i>
<i>Secale cereale</i>	<i>Gladiolus</i> spp.
<i>Solanum melongena</i>	<i>Gmelina arborea</i>
<i>Solanum</i> sp.	<i>Gassypium hirsutum</i>
<i>Solanum tuberosum</i>	<i>Grevillea robusta</i>
<i>Sorghum vulgare</i>	<i>Hevea brasiliensis</i>
<i>Vigna radiata</i>	<i>Hevea</i> spp.
<i>Vitis vinifera</i>	<i>Hordeum vulgare</i>
<i>Vitis</i> spp.	<i>Jacaranda copoia</i>
<i>Ziziphus</i> sp.	<i>Lactuca sativa</i>
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	<i>Lens culinaris</i>
<i>Baccharis</i> sp.	<i>Lycopersicon esculentum</i>
<i>Gossypium hirsutum</i>	<i>Malpighia globro</i>
<i>Fusarium</i> spp.	<i>Malus domestico</i>
<i>Allium cepa</i>	<i>Manihot esculenta</i>
<i>Allium sativum</i>	<i>Manilkara bella</i>
<i>Anacardium</i> spp.	<i>Manilkara huberi</i>
<i>Anadenanthera peregrina</i>	<i>Mezilourus itouba</i>
<i>Ananas comosus</i>	<i>Musa paradisiaca</i>
<i>Anthocephalus cadamba</i>	<i>Oryza sativa</i>
<i>Apuleia leiocarpa</i>	<i>Panicum maximum</i>
<i>Arachis hypogaea</i>	<i>Paspalum</i> sp.
<i>Arrhenatherum elatius</i>	<i>Passiflora edulis</i>
<i>Asparagus officinolis</i>	<i>Passiflora edulis</i> f. <i>flovicarpa</i>
<i>Avena sativa</i>	<i>Paullinia cupona</i>
<i>Bactris gasipaes</i>	<i>Phaseolus lunotus</i>
<i>Bagassa guanensis</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>
<i>Beta vulgaris</i>	<i>Pinus ellioti</i>
<i>Bixa orellana</i>	<i>Pinus</i> spp.
<i>Brachiaria brizantha</i>	<i>Pinus taeda</i>
<i>Brassica aleraceo</i>	<i>Piper nigrum</i>
<i>Bramus catharticus</i>	<i>Pisum sativum</i>
<i>Capsicum annuum</i>	<i>Polygonum persicaria</i>
<i>Capsicum frutescens</i>	<i>Pseudobombax munguba</i>

Continuação Tabela 3

<i>Psidium guajava</i>	<i>Fusarium xylarioides</i>
<i>Rheum rhaponticum</i>	<i>Glycine max</i>
<i>Ricinus communis</i>	<i>Gossypium hirsutum</i>
<i>Saccharum officinarum</i>	<i>Gibberella avenacea</i>
<i>Senna obtusifolia</i>	<i>Triticum aestivum</i>
<i>Sesamum indicum</i>	<i>Gibberella gossypina</i> (?)
<i>Sonchus oleraceus</i>	<i>Gossypium hirsutum</i>
<i>Sorghum bicolor</i>	<i>Gibberella moniliforme</i>
<i>Sorghum</i> spp.	<i>Zea mays</i>
<i>Stryphnodendron adstringens</i>	<i>Colonectria rigidiuscula</i>
<i>Tabebuia serratifolia</i>	<i>Theobroma cacao</i>
<i>Tabebuia</i> sp.	<i>Gibberella subglutinans</i>
<i>Talinum triangulare</i>	<i>Ananas comosus</i>
<i>Thea sinensis</i>	<i>Gibberella zeae</i>
<i>Triticum aestivum</i>	<i>Andropogon bicornis</i>
<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Bothriachloa</i> sp.
<i>Zea mays</i>	<i>Cortaderia selloana</i>
<i>Zingiber officinale</i>	<i>Digitaria sanguinalis</i>
<i>Fusarium subglutinans</i>	<i>Echinochloa crusgalli</i>
<i>Ananas comosus</i>	<i>Panicum maximum</i>
<i>Bactris gasipaes</i>	<i>Paspalum urvillei</i>
<i>Mangifera indica</i>	<i>Pennisetum americanum</i>
<i>Saccharum officinarum</i>	<i>Pennisetum clandestinum</i>
<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Pennisetum purpureum</i>
<i>Vitis</i> spp.	<i>Sorghum vulgare</i>
<i>Vitis vinifera</i>	<i>Triticum aestivum</i>
<i>Zea mays</i>	<i>Zea mays</i>
<i>Fusarium subglutinans</i> f.sp. <i>ananas</i>	<i>Nectria haematococca</i>
<i>Ananas comosus</i>	<i>Passiflora edulis</i>
<i>Fusarium sulphureum</i>	<i>Piper nigrum</i>
<i>Glycine max</i>	<i>Nectria haematococca</i> f. sp. <i>piperis</i>
<i>Gossypium hirsutum</i>	<i>Piper aduncum</i>
<i>Fusarium tricinctum</i>	<i>Piper hostmannianum</i>
<i>Arachis hypogaea</i>	<i>Piper nigrum</i>
<i>Hordeum vulgare</i>	<i>Nectria mauritiicola</i> (?)
<i>Musa cvs.</i>	<i>Carica papaya</i>
<i>Urena lobata</i>	<i>Nectria setafusariae</i>
<i>Fusarium ventricosum</i>	<i>Palmae (Arecaceae)</i>
<i>Glycine max</i>	

LITERATURA CITADA

- BOOTH, C. 1971. The genus *Fusarium*. Kew, Commonwealth Mycological Institute.
- BOOTH, C. 1981. Perfect states (teleomorphs) of *Fusarium* species. In: Nelson, P.E.; Toussoun, T.A. & Cook, R.J. (Ed.). *Fusarium: diseases, biology, and taxonomy*. University Park, The Pennsylvania State University Press, p.446-52.
- BURGESS, L.W. 1981. General ecology of *Fusarium* In: Nelson, P.E.; Toussoun, T.A.; Cook, R.J. (Ed.). *Fusarium: diseases, biology, and taxonomy*. University Park: The Pennsylvania State University, p.225-35.
- BURGESS, L.W.; SUMMERELL, B.A.; BULLOCK, S.; GOTT, K.P. & BACKHOUSE, D. 1994. Laboratory manual for *Fusarium* research. Sydney, University of Sydney.
- CARRERA, C.J.M. 1975. Las especies de *Fusarium* causales de enfermedades en plantas de la Republica Argentina. In: Sarasola, A.A.; Sarasola, M.A.R. de. (Ed.). *Fitopatología: curso moderno*. Buenos Aires, Hemisfério Sur, p.163-81.
- CASTELLÁ, M.R.G.; BRAGULAT, M.R.; RUBIALES, M.V. & CABAÑES, F.J. 1997. Malachite green agar, a new selective medium for *Fusarium* spp. *Mycopathologia* 137:173-8.
- GAMS, W. & NIRENBERG, H.I. 1989. A contribution to the generic definition of *Fusarium*. *Mycotaxon* 32(2):407-16.
- GERLACH, W. 1981. The present concept of *Fusarium* classification. In: Nelson, P.E.; Toussoun, T.A.; Cook, R.J. (Ed.). *Fusarium: diseases, biology, and taxonomy*. University Park: The Pennsylvania State University Press, p.413-26.
- GERLACH, W. & NIRENBERG, H. 1982. The genus *Fusarium* a pictural atlas. Berlin, Kommissionsverlag Paul Parey.
- GORDON, W.L. 1952. The occurrence of *Fusarium* species in Canada. II. Prevalence and taxonomy of *Fusarium* species in cereal seed. *Can. J. Bot.* 30:209-51.
- HANSEN, H.N. & SMITH, R.E. 1932. The mechanisms of variation in imperfect fungi: *Botrytis cinerea*. *Phytopathology* 37:369-71.
- JOFFE, A.Z. 1974. A modern system of *Fusarium* taxonomy. *Mycopathol. Mycol. Appl.* 53:201-28.
- LEAL-BERTIOLI, S.C. de M. 1998. O enfoque molecular na sistemática de fungos. *Rev. Anu. Patol. Plantas.* 6:197-230.
- LIBERATO, J.R.; COSTA, H. & VENTURA, J.A. 1996. Índice de doenças de plantas do Estado do Espírito Santo. Vitória, EMCAPA.
- MATUO, T. 1992. Taxonomic studies of phytopathogenic Fusaria in Japan. *Rev. Plant Prot. Res.* 5:34-45.

- McMULLEN, M.P. & STACK, R.W. 1983. Effects of isolation techniques and media on the differential isolation of *Fusarium* species. *Phytopathology* 73:458-62.
- MENDES, M.A.S.; SILVA, V.L. da; DIANESE, J.C.; FERREIRA, M.A.S.V.; SANTOS, C.E.N. dos; GOMES NETO, E.; URBEN, A.F. & CASTRO, C. 1998. Fungos em plantas no Brasil. Brasília, EMBRAPA-SPI, EMBRAPA-CENARGEN.
- MESSIAEN, C.M. & CASSINI, R. 1968. Rechercher sur les fusarioses. IV. La systématique des *Fusarium*. *Ann. Epiphyt.* 19:387-454.
- MESSIAEN, C.M. & CASSINI, R. 1981. Taxonomy of *Fusarium*. In: Nelson, P.E.; Toussoun, T.A.; Cook, R.J. (Ed.). *Fusarium: disease, biology, and taxonomy*. University Park: The Pennsylvania State University Press, p.427-45.
- MEYERS, J.A. & COOK, R.J. 1972. Induction of chlamydospore formation in *Fusarium solani* by abrupt removal of the organic carbon substrate. *Phytopathology* 62(10):1148-53.
- NASH, S.M. & SNYDER, W.C. 1965. Quantitative and qualitative comparisons of *Fusarium* populations in cultivated fields and non cultivated parent soils. *Can. J. Bot.* 43:939-45.
- NELSON, P.E. 1991 History of *Fusarium* systematics. *Phytopathology* 81:1045-8.
- NELSON, P.E.; TOUSSOUN, T.A. & MARASAS, W.F.O. 1983. *Fusarium* species an illustrated manual for identification. University Park: The Pennsylvania State University Press.
- NIRENBERG, H.I. & O'DONNELL K. 1998. New *Fusarium* species and combinations within the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia* 90(3):434-58.
- O'DONNELL K.; CIGELNIK, E. & NIRENBERG, H.I. 1998. Molecular systematics and phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia* 90(3):465-93.
- PAPAVIZAS, G.C. 1967. Evaluation of various media and antimicrobial agents for isolation of *Fusarium* from soil. *Phytopathology* 57:848-52.
- SAMUELS, G.J. & NIRENBERG, H. 1989. *Nectria* and *Fusarium*. 1- *Nectria setofusariae* and its anamorph *Fusarium setosum*. *Can. J. Bot.* 67:3372-7.
- SNYDER, W.C. & HANSEN, H.N. 1940. The species concept in *Fusarium*. *Am. J. Bot.* 27:64-7.
- SNYDER, W.C. & HANSEN, H.N. 1941. The species concept in *Fusarium* with reference to section *Martiella*. *Am. J. Bot.* 28:738-42.
- SNYDER, W.C. & HANSEN, H.N. 1945. The species concept in *Fusarium* with reference to *Discolor* and other sections. *Am. J. Bot.* 32:657-66.
- SNYDER, W.C.; HANSEN, H.N. & OSWALD, J.W. 1957. Cultivars of the fungus *Fusarium*. *J. Madras Univ. B* 27:185-92.