II Congresso Internacional das Ciências Agrárias COINTER - PDVAgro 2017

EFEITO DA LUMINOSIDADE E DO MEIO DE CULTURA NO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Lasiodiplodia* sp. ISOLADO DE SEMENTES DE JUCÁ

Ana Karoliny Alves Santos¹; Iêda Alana Leite de Sousa²; Danielle Pereira Mendonça³;
Carina Melo da Silva⁴; Ruth Linda Benchimo⁵

Introdução

Várias espécies arbóreas têm sido utilizadas na recuperação de áreas degradadas, devido ao seu rápido crescimento e rusticidade (LIMA, 2004), principalmente aquelas de rápido crescimento, que são excelentes para plantios mistos e recomposição de áreas degradadas (LORENZI, 2002). Dentre estas, encontra-se o Jucá (*Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul. var. *ferrea*), espécie pertencente à família Fabaceae (Leguminosae), uma planta arbórea, de ampla dispersão e baixa densidade populacional, formando copa arredondada, fechada e densa (LORENZI, 2002). O jucá tem grande potencial medicinal e ornamental e sua madeira de alta densidade é utilizada na construção civil e na carpintaria (LORENZI, 2000; MAIA, 2004).

Porém, esta espécie está sujeita ao ataque de vários fitopatógenos, dentre os quais os fungos são os mais ativos, apresentando maior habilidade em penetrar e se alojar mais facilmente nos tecidos vegetais (MACHADO, 1988), como é o caso do fungo *Lasiodiplodia* sp. (Pat.) Griffon Maublque, que é polífago, sendo capaz de infectar, isoladamente ou em associação com outros patógenos, mais de 500 espécies vegetais (FREIRE; CARDOSO, 2003).

A qualidade e a intensidade de luz são fatores que podem afetar a germinação de conídios, a taxa de crescimento vegetativo e a indução de formação de estruturas reprodutivas. Para a maioria dos organismos, a luminosidade é um fator ambiental que regula o desenvolvimento e os processos de metabolismo (SOUZA et al., 2015). A temperatura é outro fator que exerce influência no crescimento, esporulação e germinação dos fungos (TEIXEIRA et al., 2001).

Os meios de cultura tem função importante no crescimento micelial de fungos fitopatogênicos. Em geral, estes fungos utilizam para o seu crescimento e desenvolvimento várias

¹ Graduanda em Agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA, karol.ine20@hotmail.com

² Engenheira Florestal, Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, ialanaleites@gmail.com

³ Graduanda em Agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, daniellepereiraam@gmail.com

⁴ Doutora em Agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia, carinamelosilva@gmail.com

⁵ Pesquisadora do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA, ruth.benchimol@gmail.com

fontes nutricionais, entre as quais os açúcares, que são os carboidratos mais requeridos pelos fungos e podem variar desde os mais simples aos mais complexos (ORLANDELLI et al., 2012).

Esse trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes regimes de luminosidade e de meios de cultura no crescimento micelial de *Lasiodiplodia* sp. isolado de sementes de Jucá.

Fundamentação Teórica

A dificuldade em conseguir isolados esporulantes, ou mesmo padronizar condições ideais para a esporulação de fungos fitopatogênicos, é um dos principais problemas enfrentados por grupos de pesquisa que visam à identificação de cultivares resistentes (CRUZ et al., 2009). Sabe-se que a composição do meio de cultura, a temperatura e a luminosidade determinam a quantidade e qualidade do crescimento micelial e esporulação dos fitopatógenos, mostrando-se assim de grande importância para este estudo (DHINGRA; SINCLAIR 1995).

Metodologia

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitopatologia, da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, Pará. Os frutos de jucá foram coletados nos municípios de Marabá e Belém, estado do PA, e, posteriormente, armazenados em sacos de papel e transportados até o laboratório, para processamento e análise.

Para a detecção do patógeno nas sementes de jucá foram selecionadas 100 sementes, das quais 50 foram plaqueadas após assepsia para desinfestação superficial (Hipoclorito de sódio 1%; três minutos) e 50 sem assepsia. Em seguida, as mesmas foram distribuídas em placas de Petri (cinco sementes por placa) contendo duas folhas papel filtro previamente umedecidas com calda agarizada (Água-Ágar 0,2%; quatro mL por placa). As placas foram, então, incubadas à temperatura de 24 ± 2 °C durante sete dias. Ao final desse período, foram feitas lâminas do crescimento dos patógenos detectados nas sementes e foi, dessa forma, constatada a presença do fungo *Lasiodiplodia* sp. nas sementes. O patógeno foi, então, repicado para meio BDA para fins de multiplicação e preservação.

O fungo foi repicado para placas de Petri contendo os meios BDA (extrato de 200 g de batata, 20 g de dextrose, 20 g de ágar e 1000 mL água destilada), Malte (1 L de água, 20 g de ágar e 20 g de extrato de Malte em pó) e V8 (suco V8, 100 mL de CaCO_3 , 20 g de ágar e 900 mL de água destilada), e as mesmas foram encubadas em câmaras de armazenamento do tipo BOD a

temperatura constante e igual a 25° (±2°C), e submetidas a diferentes luminosidades: escuro (24 h), claro (24 h) e alternado (12 h claro/escuro). Foram repicados discos de micélio do patógeno (ø= 5 mm) em placas de Petri contendo os meios de cultura. A cada 24 horas foram feitas medições do diâmetro das colônias, totalizando quatro dias de avaliação. Os dados obtidos foram utilizados no cálculo do Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM), onde $IVCM = \Sigma (D - D_a)/N$, sendo D= diâmetro médio atual da colônia; D_a = diâmetro médio da colônia no dia anterior e N= número de dias após a inoculação.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, com cinco repetições, em arranjo fatorial 3x3. A análise estatística de variância foi feita pelo teste F (p-valor≤0.05) e as médias de crescimento foram comparadas pelo teste de Scott-Knott (p-valor≤0.05).

Resultados e Discussões

O crescimento micelial de *Lasiodiplodia* ocorreu em todos os tratamentos. No entanto, foi detectada interação entre os meios de cultura e os regimes de luminosidade avaliados (Tabela 1).

Tabela 1 - Crescimento micelial (mm) de *Lasiodiplodia* sp., isolado de sementes de jucá (*C. ferrea*), em diferentes meios de cultura, sob três regimes de luminosidade .

Regime de Luminosidade ¹	Meio de Cultura ²		
	BDA	MALTE	V8
Claro (12 h)	51,18bB	35,90cC	58,77aA
Escuro (12 h)	50,57bB	34,79cC	53,73aA
Alternado (12 h/12 h)	57,29bA	26,12cC	57,36aA
CV = 12,25			

¹Médias de três repetições por tratamento. Médias seguidas das mesmas letras minúsculas (linhas) e maiúsculas (colunas) não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5%

O IVCm do patógeno foi superior no meio de cultura V8, sob regime de luminosidade 12h claro, do que nos outros tratamentos, seguido do meio de BDA e Malte, respectivamente. Quanto aos regimes de luminosidade avaliados, o IVCm foi maior em V8 (58,77) do que em BDA (51,18). O meio malte apresentou menor IVCm (26,12) tanto para os meios quanto para os regimes de luminosidade testados. A diferença de crescimento observada neste estudo pode ser explicada pela composição nutricional dos diferentes meios utilizados. De acordo com Andrade et al. (2015) isolados fúngicos podem apresentar diferenças significativas na velocidade de crescimento micelial em meios de cultura, isto se deve a composição do meio cultura que pode ou não estimular o crescimento micelial.

A atividade microbiana é regulada além das condições nutricionais pela temperatura, disponibilidade de água e outros fatores como concentração de prótons e suprimento de oxigênio (GOMES; PENA, 2016). Extratos e sucos oriundos de folhas ou de outras partes vegetais também têm sido apontados como estimuladores do crescimento micelial e a esporulação de vários fungos (MONTARROYOS et al., 2007).

Considerando a média dos resultados avaliados no regime de luminosidade, foi possível observar maior crescimento micelial do fungo em regime de luz contínua. Houve variação do crescimento micelial nos diferentes meios de cultura testados. De acordo com Oliveira et al. (2010), as variações entre os isolados decorrem do aproveitamento dos mesmos sobre os meios de cultura utilizados, assim como a necessidade de luz para o crescimento e esporulação de fungos é muito variável, até mesmo entre isolados da mesma espécie.

Conclusões

Conclui-se que o crescimento micelial do *L. theobromae* foi melhor no meio de cultura V8 em regime de luz constante, porém entre os tratamentos em meio V8, estatisticamente, não houve diferença do regime de luz no crescimento micelial. Sendo assim o V8, independente do regime de luz, o melhor meio para o fungo.

Referências

ANDRADE, M. V. R. F. D.; DEUSDARÁ, T. T.; SCHEIDT, G. N.; CHAGAS JÚNIOR, A. F. Isolamento, caracterização fenotípica e perfil de crescimento de cepas do fungo *Cunninghamella* sp. de solo do Sul do Tocantins, Brasil. **Biota Amazônia**, v. 5, n. 2, p. 58-64, 2015.

CARNAÚBA, J. P. et al. Avaliação de diferentes meios de cultura na esporulação de *Scytalidium lignicola*. **Summa Phytopathologica**, v.33, p.199-200, 2007.

CRUZ, M. F. A.; PRESTES, A. M.; MACIEL, J. L. N. Esporulação de *Pyricularia grisea* em diferentes meios de cultura e regimes de luz. **Ciência Rural**, v.39, p.1562-1564, 2009.

DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Basic Plant Pathology Methods**. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida.1995.

FREIRE, F.C.O. & CARDOSO, J.E. Doenças do cajueiro. In: Freire, F.C.O, Cardoso, J.E. & Viana, F.M.P. (Ed.) **Doenças de fruteiras tropicais de interesse agroindustrial**. Brasília. Embrapa Informações Tecnológica, p. 191-226, 2003.

GOMES, E. M. C.; PENA, R. C. M. Isolamento, caracterização morfológica e avaliação do crescimento micelial e esporulação em diferentes meios de cultura de cepas do fungo *Quambalaria* sp. **Biota Amazônia**, Macapá, v. 6, n. 4, p. 59-63, 2016.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 3ed Nova Odessa: Instituto Plantarum, 351 p. v.2. 2000.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 69 p. v.1. 2002.

LIMA, P. C. F. Áreas degradadas: métodos de recuperação no semiárido brasileiro. In: REUNIAO NORDESTINA DE BOTANICA, 27., 2004, Petrolina,...**Anais** PE. Petrolina: SBB; Embrapa Semiárido; UNEB, 1 CD-ROM.2004.

MAIA, G.N. **Caatinga**: árvores e arbustos e suas utilidades, São Paulo: Leitura e Arte, MENEZES, M.; SILVA-HANLIN, D. M. W. **Guia prático para fungos fitopatogênicos**. Recife: UFRPE, 1997. 106p.413 p.2004.

MONTARROYOS, A. V. V.; COELHO, R. S. B.; FERRAZ, G. M. G.; SANTOS, R.; SANTOS, V. F.; ANDRADE, P. P. Efeitos de meio de cultura, fontes de carbono e nitrogênio, pH e regime luminoso no crescimento de *Mycosphaerella musicola*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 1, p. 86-89, 2007.

OLIVEIRA, J.; ALEXANDRE, E.R.; SILVA, E.K.C.; SILVA, R.L.X.; OLIVEIRA, S.M.A. Estudos do crescimento micelial sobre isolados de *Lasiodiplodia theobromae*. In: Jornada de ensino, pesquisa e extensão, 5., 2010, Recife. **Resumos**. Recife: UFRPE, p.3-3.2010.

ORLANDELLI, R. C., et al., Enzimas de interesse industrial: produção por fungos e aplicações. SaBios: **Rev. Saúde e Biol.**, v.7, n.3, p.97-109, set.- dez., 2012.

SOUZA, W. C. O.; NASCIMENTO L. C.; SANTOS, T. S.; VIDAL, J. M.; SILVA, H. F. Comportamento *in vitro* de *Chalara paradoxa*, agente causal da podridão-negra do abacaxizeiro, em diferentes condições de cultivo, **Revista Brasileira de Fruticultura** Jaboticabal - SP, v. 37, n. 4, p. 845-851, 2015.

TEIXEIRA, H.; CHITARRA, L.G.; ARIAS, S.M.S.; MACHADO, J.C. Efeito de diferentes fontes de luz no crescimento e esporulação *in vitro* de fungos fitopatogênicos. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.25, n.6, p.1314-1320, 2001.