



VI SIMPÓSIO DE ESTUDOS E PESQUISAS
EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS NA AMAZÔNIA

*"Perspectivas e inovações para o
desenvolvimento socioeconômico e ambiental
da Amazônia"*

ANAIIS

TRABALHOS COMPLETOS - 2017

VOLUME II

ISSN: 2316-7637



CRESCIMENTO MICELIAL DE *Thielaviopsis* sp. ISOLADO DE PARICÁ EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA E REGIMES DE LUMINOSIDADE

Ruth Linda Benchimol¹, Cássia Cristina Chaves Pinheiro², Ana Karoliny Alves Santos³, Carina Melo da Silva⁴,
Noemi Vianna Martins Leão⁵, Iêda Alana Leite de Sousa⁶

¹Pesquisadora Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Fitopatologia. ruth.benchimol@embrapa.br

²Estudante de Graduação em Agronomia. Universidade Federal Rural da Amazônia.
cassiapinheiro002@gmail.com

³Estudante de Graduação em Agronomia. Universidade Federal Rural da Amazônia. karol.ine20@hotmail.com

⁴Doutora em Agronomia. carinamelosilva@hotmail.com.

⁵ Pesquisadora Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Sementes Florestais. noemi.leao@embrapa.br

⁶Engenheira Florestal. ialanleites@gmail.com

RESUMO

Entre as essências florestais nativas da região norte, com potencial para o reflorestamento de áreas degradadas, destaca-se o Paricá (*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducke) Barneby). Dentre os agentes etiológicos que podem acometer essa cultura encontra-se o fungo *Thielaviopsis* sp., considerado um patógeno agressivo e de difícil controle, que pode reduzir o potencial madeireiro da espécie. O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento micelial “*in vitro*” de *Thielaviopsis* sp. em diferentes meios de cultura e regimes de luminosidade. Discos de cultura do patógeno ($\varnothing = 5$ mm) retirados da borda de colônias foram transferidos para o centro de placas de Petri contendo os meios de cultura de BDA, Malte e V8 e incubados sob três regimes de luminosidade (escuro contínuo, regime de luz alternado e luz contínua), durante sete dias, sob a temperatura de $25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (3x3), com cinco repetições. A análise estatística foi feita pelo teste F ($p \leq 0.05$) e as médias de crescimento foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0.05$), utilizando o programa SISVAR (versão 5.6). Foram observadas variações significativas no crescimento micelial de *Thielaviopsis* sp. nos diferentes meios de cultura e regimes de luminosidade testados, o fungo apresentou maior crescimento micelial quando foi cultivado em regime de luz alternada e o meio V8 induziu maior crescimento micelial do patógeno.

Palavras-chave: *Schizolobium amazonicum*, agente etiológico, fungo.

Área de Interesse do Simpósio: Agronomia

1. INTRODUÇÃO

O cultivo de espécies florestais nativas é uma alternativa econômica viável, de menor impacto ambiental frente às culturas exóticas e reduz a pressão sobre áreas de mata nativa, sobretudo nas regiões Norte e Nordeste do Brasil. Uma espécie que tem apresentado potencial na Região Amazônica é a *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducke) Barneby da família botânica Fabaceae, conhecida popularmente como Paricá (MAFIA et al., 2003).

O Paricá é uma espécie recomendada pelo setor produtivo para o reflorestamento por apresentar como características o rápido crescimento, fuste reto e fácil obtenção de sementes (TREMACOLDI et al., 2009). E, ainda, possui rápido crescimento, em altura e diâmetro, o que possibilita a sua utilização comercial em poucos anos (ALMEIDA et al., 2013). Além do uso para reflorestamento, o Paricá também produz madeira utilizada para geração de energia (VIDAURRE, 2012) e para produção de pasta celulósica, produzindo um papel branqueado de excelente resistência (IWAKIRI et al., 2010).

A produção de Paricá apresenta como principais entraves os aspectos biotecnológicos e fitossanitários, que ainda carecem de pesquisas aplicadas, visto que o aumento das áreas cultivadas com Paricá, não foram acompanhadas por ações fitossanitárias, como o monitoramento sistemático de insetos, e das interações entre o paricá e organismos degradadores de madeira, como fitopatógenos (TREMACOLDI et al., 2009) e insetos (LUNZ et al., 2010).

O fungo *Chalara* (*Thielaviopsis paradoxa* (De Seynes Hoehn)), cuja forma teleomórfica corresponde a *Ceratocystis paradoxa* (Dade) C. Moreau (MICHEREFF, 1997) é considerado um patógeno agressivo e de difícil controle, o qual ameaça o potencial de produção de madeira da cultura do Paricá (GELDENHUIS, 2005).

A dificuldade da obtenção de isolados esporulantes, ou mesmo de se 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 de plantas resistentes a patógenos (CRUZ et al., 2009). A composição do meio de cultura pode determinar o crescimento micelial de fitopatógenos (ORLANDELLI et al., 2012), assim como a luminosidade que pode regular o desenvolvimento e os processos de metabolismo em condições “*in vitro*”, simulando condições ideais para o progresso da doença no campo (SOUZA et al., 2015).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento micelial de *Thielaviopsis* sp., isolado de plantas de Paricá, em diferentes meios de cultura e regimes de luminosidade.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA. O fungo *Thielaviopsis* sp. foi isolado de amostras de caule de plantas de Paricá com três anos de idade cultivadas no município de Igarapé-Miri, PA. Os sintomas observados no caule consistiam de manchas de coloração escura e alongada tanto na parte externa quanto interna. O isolamento foi realizado com a desinfestação das amostras com álcool a 70 % (30 segundos), seguido de Hipoclorito de Sódio a 1 % (3 minutos), e posteriormente, plaqueadas em Ágar-Água (Ágar 20 g; H₂O destilada estéril 1000 mL). As placas foram incubadas sob temperatura de 24 ± 2 °C, com fotoperíodo de 12h claro / 12h escuro durante 48 h, então as colônias fúngicas foram repicadas para meio BDA (200 g de Batata; 20 g de Dextrose; 20 g de Ágar e 1000 mL de H₂O destilada) e armazenadas durante sete dias. Foram realizadas lâminas microscópicas objetivando a identificação da espécie.

Para a avaliação do crescimento micelial do *Thielaviopsis* sp., foram repicados discos de micélio da colônia do patógeno ($\varnothing = 5$ mm) para placas de Petri ($\varnothing = 90$ mm) contendo diferentes meios de cultura e submetidas à diferentes regimes de luminosidade. Os meios testados foram: BDA, Malte-Ágar (20 g de Extrato de Malte em pó; 20 g Ágar e 1000 mL H₂O destilada estéril) e V8 (200 mL de Suco de V8 (Campbel Soup Company); 100 mL de CaCO₃; 20 g de Ágar e 900 mL de H₂O destilada estéril). As placas foram incubadas à temperatura constante (25 ± 2 °C) e submetidas aos regimes de luminosidade: escuro constante (ausência de luz), claro constante (presença de luz) e alternado (12 h claro e 12 h escuro). O delineamento experimental foi inteiramente ao caso, com cinco repetições, em arranjo fatorial 3 x 3.

A avaliação do crescimento micelial consistiu da medição diária do diâmetro da colônia do patógeno em dois sentidos diametralmente opostos, com auxílio de um paquímetro digital até a colônia ocupar todo o raio da placa. Os dados obtidos foram empregados no cálculo do Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) conforme a fórmula descrita por Oliveira (1991): $IVCM = \Sigma (D - D_a) / N$, onde IVCM= Índice de Velocidade de Crescimento Micelial; D= diâmetro médio atual da colônia; D_a= diâmetro médio da colônia do dia anterior; N= número de dias após a inoculação. Para a análise estatística, os dados foram submetidos ao teste F ($p \leq 0,05$) e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). O programa utilizado para as análises foi o SISVAR, versão 5.6 (FERREIRA, 2000).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O crescimento micelial de *Thielaviopsis* sp. ocorreu em todos os tratamentos. No entanto, houve diferença significativa para os meios de cultura e regimes de luminosidade avaliados (Tabela 1).

Tabela 1-Índice de Velocidade de Crescimento micelial do isolado de *Thielaviopsis* sp. em diferentes meios de cultura sob três regimes de luminosidade.

Regime de luminosidade	Meio de cultura		
	Claro	Escuro	Alternado
BDA	28,60 cC	44,63 bB	52,52 bA
Malte	39,35 bB	48,43 bB	52,60 bA
V8	58,77 aA	60,61 aA	65,93 aA
CV%			7,71

*Médias seguidas das mesmas letras minúsculas (coluna) e maiúsculas (linhas) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

O IVCM do fungo *Thielaviopsis* sp. cultivado no meio V8 foi superior estatisticamente aos demais meios de cultura testados, independente ao regime de luz submetido. O meio de cultura utilizado universalmente para o cultivo de fungos é o BDA, e neste trabalho o regime de luz que favoreceu o aumento do IVCM do *Thielaviopsis* sp. foi o alternado (12 h claro e 12 h escuro).

A variação do crescimento micelial da colônia fúngica 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. Resultados semelhantes a este trabalho foram encontrados por Dias Neto et al. (2010) que relataram produção satisfatória de conídios de *Magnaporthe grisea* utilizando o meio V8.

Nos meios de Malte e BDA houve crescimento micelial, porém com índices menores quando comparados ao meio V8, provavelmente por este meio ser mais rico em nutrientes, proporcionou maior desenvolvimento ao fungo. Pereira et al. (2006), concluíram que alguns fungos podem utilizar a energia do meio de cultura exclusivamente para o crescimento, enquanto outros utilizam sua energia para esporulação.

Considerando a média dos resultados nos regimes de luminosidade, observou-se maior crescimento micelial quando *Thielaviopsis* sp. foi cultivado em regime de luz alternada, em todos os meios de cultura testados. De acordo com Queiroz et al. (1993) a luminosidade pode exercer efeito inibidor ou indutor na formação de estruturas reprodutivas e crescimento dos fungos.

4. CONCLUSÃO

O meio de cultura V8 independente dos regimes de luminosidade, luz, claro ou alternado, favoreceu o índice de velocidade de crescimento micelial de *Thielaviopsis* sp., isolado de plantas de Paricá.

REFERÊNCIAS

Realização:

Apoio:

ALMEIDA, D. H.; SCALIANTE, R. de M.; MACEDO, L. B.; MACÊDO, A. N.; DIAS, A. A.; CHRISTOFORO, A. L.; e CALIL JUNIOR, C. Caracterização completa da madeira da espécie amazônica paricá (*Schizolobium amazonicum* HERB) em peças de dimensões estruturais. **Revista Árvore**, v.37, n.6, p.1175-1181, 2013.

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.

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.

DIAS NETO, J. J.; SANTOS, G. R.; CASTRO NETO, M. D; ANJOS, L. M.; CUNHA, A. C. F.; IGNÁCIO, M. Influência do meio de cultura na esporulação de *Magnaporthe grisea* e da concentração de conídios na severidade da brusone do arroz. **Bioscience Journal**, v. 26, p. 173-179. 2010.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do SISVAR (Sistema para análise de variância) para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA. **Programas e Resumos...** São Carlos: UFSCar, p. 255-258, 2000.

GELDENHUIS, M. M. Studies on fungi associated with dying *Schizolobium parahybum* in Ecuador. **Dissertation (M. Sc.)** - Faculty of Natural and Agricultural Sciences, Department of Microbiology and Plant Pathology, University of Pretoria, Pretoria, South Africa. 90 p. 2005.

IWAKIRI, S. MATOS, J. L. M. PINTO, J. A. VIANA, L. C. SOUZA, M. M. TRIANOSKI, R. ALMEIDA, V. C. Produção de painéis laminados unidirecionais - LVL com lâminas de *Schizolobium amazonicum*, *Eucalyptus saligna* e *Pinus taeda*. **Cerne**, v. 16, n. 4, p. 557-563, 2010.

LUNZ, A. M.; BATISTA, T. F. C.; ROSÁRIO, V. S. V.; MONTEIRO, O. M.; MAHON, A. C. Ocorrência de *Pantophthalmus kerteszi* e *P. chuni* (Diptera: *Pantophthalmidae*) em paricá, no Estado do Pará. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 30, p. 71-74, 2010.

MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; ANDRADE, G. C. G.; ZAUZA, E. A. V.; PFENNING, L. H.; ROSA, J. Tombamento de mudas causado por *Fusarium solani*: uma nova doença do paricá no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 450, 2003.

MICHEREFF, S. J. Fungos como agentes de doenças de plantas. **Fitopatologia**. 1997. Ministério da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento. Disponível em: www.agricultura.gov.com.br . Acesso em: outubro, 2016.

OLIVEIRA, J.A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L.) e pimentão (*Capsicum annuum* L.)**. 1991. 111f. Tese (Mestrado em Fitossanidade) - Escola superior de Agricultura de Lavras, Lavras.1991.

ORLANDELLI, R. C.; SPECIAN, V.; FELBER, A. C.; PAMPHILE, J. A. Enzimas de interesse industrial: produção por fungos e aplicações. Sabios: **Rev. Saúde e Biol.**, v. 7, n. 3, p. 97-109, 2012.

PEREIRA, A. L.; SILVA, G. S.; RIBEIRO, V.Q. Caracterização fisiológica, cultural e patogênica de diferentes isolados de *Lasioidiplodia theobromae*. **Fitopatologia Brasileira**, v.31, p.572-578, 2006.

QUEIROZ, F.M.; MENEZES, M. Efeito de meios de cultura e do regime de luz na esporulação de *Cercospora nicotianae*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.18, n.4, p.545-547, 1993.

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**, v. 37, n. 4, p.845-851, 2015.

TREMACOLDI, C. R.; LUNZ, A. M.; COSTA, F. R. S.; Cancro em Paricá no Estado do Pará *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* **Pesquisa Florestal Brasileira**, Nota científica. Colombo, n.59, p.67-73, jul./dez. 2009.

VIDAURRE, G. B. CARNEIRO, A. C. O. VITAL, B. R. SANTOS, R. C. M. L. VALLE, A. Propriedades energéticas da madeira e do carvão de paricá (*Schizolobium amazonicum*). **Revista Árvore**, v.36, n.2, p.365-371, 2012.