

VII CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO

**8 a 12 de setembro de 2002
Viçosa-MG**

RESUMOS EXPANDIDOS

Departamento de Fitotecnia
Universidade Federal de Viçosa
Viçosa-MG
2002

MEIO LÍQUIDO PARA PRODUÇÃO DE MICÉLIO DE *Phaeoisariopsis griseola* E *Colletotrichum lindemuthianum*

Fernanda Almeida de Carvalho¹ e Aloísio Sartorato²

O surgimento das técnicas do DNA recombinante veio fornecer novas metodologias para as investigações da variação genética de fungos fitopatogênicos de forma mais completa e segura. Entretanto, este tipo de análise necessita de quantidades suficientes de DNA genômico para a realização dos diferentes tipos de estudo. No caso de espécie vegetal, o DNA é extraído diretamente da planta. Porém, no caso específico de patógenos necessita-se, inicialmente, multiplicar o microrganismo para posteriormente realizar a sua extração. O objetivo do presente estudo foi avaliar qual o melhor meio líquido para o crescimento micelial dos fungos *Phaeoisariopsis griseola* e *Colletotrichum lindemuthianum*, agentes causais da mancha-angular e da antracnose do feijoeiro-comum, respectivamente.

Os meios de cultura utilizados e os componentes necessários, para um litro de água destilada, foram (i) Meio de Kado (10,0 g de dextrose, 8,0 g de caseína ácida hidrolizada, 4,0 g de extrato de leveduras, 2,0 g de K_2HPO_4 e 0,5 g de $MgSO_4$), (ii) Extrato de levedura (10,0 g de dextrose e 2,0 g de extrato de leveduras), (iii) Meio de suco de tomate (200 mL de suco de tomate e 4,5 g de $CaCO_3$) e (iv) Meio de Batata-Dextrose (200 g de batata e 10,0 g de dextrose). Após o preparo, 50 mL de cada meio foram distribuídos em Erlenmeyers de 125 mL de capacidade e autoclavados a 120°C por 20 minutos.

O micélio do fungo *Phaeoisariopsis griseola* foi produzido pelo método do multiponto em placas de Petri contendo meio sólido de folha de feijoeiro-dextrose-agar. Para *Colletotrichum lindemuthianum* o fungo foi repicado para o centro de uma placa de Petri contendo o meio de BDA. As placas foram incubadas por sete a oito dias à temperatura de 22-24°C e 20-22°C para os fungos *Phaeoisariopsis griseola* e *Colletotrichum lindemuthianum*, respectivamente. Após este período, de cada placa com os respectivos fungos e isolados foram retirados discos contendo o meio de cultura, micélio e esporos do fungo os quais foram transferidos para Erlenmeyers de 125 mL. Cada Erlenmeyer foi inoculado com cinco discos de aproximadamente 0,7 cm de diâmetro e, então, incubados à temperatura ambiente por nove dias, no caso de

¹Estudante de Graduação da Universidade Católica de Goiás, Av. Universitária 1440, CEP 74016-010 Goiânia, GO, Brasil.

²Embrapa Arroz e Feijão, Caixa Postal 179, CEP 75375-000 Santo Antônio de Goiás, GO, Brasil. E-mail: sartorat@cnpaf.embrapa.br.

Colletotrichum lindemuthianum, e 15 dias, no de *Phaeoisariopsis griseola*, sob agitação constante de 120 RPM.

Foram utilizados os isolados 60.4, 525.4 e 584.3 de *Phaeoisariopsis griseola* e os isolados 820, 876 e 928 de *Colletotrichum lindemuthianum* pertencentes à micoteca da Embrapa Arroz e Feijão. O experimento para cada patógeno foi realizado separadamente e consistiu em um fatorial inteiramente casualizado, com três repetições, sendo cada Erlenmeyer uma unidade experimental.

Antes da coleta do micélio de cada Erlenmeyer, folhas de papel de filtro de 9,0 cm de diâmetro foram numeradas, secas por 48 horas a 72°C e pesadas imediatamente após serem retiradas da estufa. A coleta do fungo consistiu em verter o meio líquido mais o micélio do fungo em um funil contendo uma folha de papel de filtro com o peso pré-determinado. O funil foi inserido em um Kitasato ligado a uma bomba de vácuo. Após a remoção do excesso de meio, foram retirados os discos de micélio originalmente transferidos para os Erlenmeyers e as folhas de papel de filtro contendo o micélio do fungo foram transferidas para uma estufa por 48 horas a 72°C. Após este período, as folhas de papel foram pesadas e, por diferença, determinado o peso do micélio seco.

Pela análise dos dados (Tabela 1), constatou-se que, para *Colletotrichum lindemuthianum*, houve interação entre isolados e meios de cultura. O meio de Suco de Tomate foi onde os três isolados produziram as maiores quantidades de micélio, enquanto no meio de Batata + Dextrose apenas dois isolados apresentaram essa característica. Para o fungo *Phaeoisariopsis griseola* não foi constatada a existência de interação entre isolados e meios de cultura, sendo os meios de Batata + Dextrose e o de Suco de Tomate onde os três isolados produziram as maiores quantidades de massa micelial. Paula Jr. et al. (Fitopatol. bras., v.20, p.314, 1995), comparando os meios de Kado, Mathur e Batata + Dextrose, demonstraram que os meios de Kado e Batata + Dextrose foram os que produziram maiores quantidades de micélio do fungo *Colletotrichum lindemuthianum*. Porém, no presente estudo, o meio de Kado produziu significativamente menos micélio quando comparado com o meio de Suco de Tomate, sendo, inclusive, o meio menos eficiente para a produção micelial do fungo *Phaeoisariopsis griseola*.

Tabela 1. Meios de cultura utilizados e peso do micélio seco (mg) dos fungos *Colletotrichum lindemuthianum* e *Phaeoisariopsis griseola*.

Meio de Cultura	Peso do micélio seco (mg)	
	<i>C. lindemuthianum</i>	<i>P. griseola</i>
Kado	0,1822 bc*	0,0556 c*
Extrato de levedura	0,1367 c	0,1689 b
Suco de tomate	0,2700 a	0,2511 a
Batata + Dextrose	0,2133 ab	0,2633 a
C.V. (%)	16,8	18,0

* Teste de Turkey, a 5%.