



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA
Vinculada ao Ministério da Agricultura
Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido - CPATU
Belém, PA

1º Simpósio do Trópico Úmido

1st Symposium
on the Humid Tropics

1er Simpósio
del Trópico Húmedo

ANAIIS PROCEEDINGS ANALES

Volume IV

Culturas Perenes

Perennial Crops Cultivos Perennes

Departamento de Difusão de Tecnologia
Brasília, DF
1986



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA
Vinculada ao Ministério da Agricultura
Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido - CPATU
Belém, PA

ISSN 0101-2835

INTERCÂMBIO

1º Simpósio do Trópico Úmido

**1st Symposium
on the Humid Tropics**

**1er Simpósio
del Trópico Húmedo**

ANAIS PROCEEDINGS ANALES

Belém, PA, 12 a 17 de novembro de 1984

Volume IV

Culturas Perenes

Perennial Crops Cultivos Perennes

Departamento de Difusão de Tecnologia
Brasília, DF
1986

Copyright © EMBRAPA - 1986

EMBRAPA-CPATU. Documentos, 36

Exemplares desta publicação podem ser solicitados à

EMBRAPA-CPATU

Trav. Dr. Enéas Pinheiro s/n

Telefone: 226-6622

Telex (091) 1210

Caixa Postal 48

66000 Belém, PA - Brasil

Tiragem: 1.000 exemplares

Observação

Os trabalhos publicados nestes anais não foram revisados pelo Comitê de Publicações do CPATU, como normalmente se procede para as publicações regulares. Assim sendo, todos os conceitos e opiniões emitidos são de inteira responsabilidade dos autores.

Simpósio do Trópico Úmido, I., Belém, 1984.
Anais. Belém, EMBRAPA-CPATU, 1986.
6v. (EMBRAPA-CPATU. Documentos, 36)

1. Agricultura - Congresso - Trópico. I. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido, Belém, PA.
II. Título. III. Série.

CDD 630.601

FISIOLOGIA DE *Colletotrichum guaranicola*: EFEITO DE MEIOS DE CULTURA E REGIMES LUMINOSOS NA ESPORULAÇÃO

Maria de Lourdes Reis Duarte¹ e Fernando Carneiro de Albuquerque¹

RESUMO - A antracnose do guaraná causada por *Colletotrichum guaranicola* Albuquerque, constitui-se na mais séria doença da cultura nos principais municípios produtores, tais como Maués, Manaus, Itacoatiara e Parintins. Pouco se conhece sobre a fisiologia do patógeno e por isso iniciou-se uma série de estudos das características fisiológicas do fungo, com o objetivo de fornecer subsídios aos programas de controle e melhoramento genético. O fungo foi cultivado nos meios de cultura BDA (batata-dextrose-ágar), BSA (batata-sucrose-ágar), raízes de cenoura-ágar, decocção de folhas de guaraná-ágar, farinha de aveia-ágar, Sabouraud e Czapek Dox, mantido à temperatura de $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ em regime alternado de 12 horas luz/12 horas escuro. Para testar o efeito de regimes de luz, *C. guaranicola* foi cultivado em BDA, mantido à temperatura de $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e submetido às condições de luz contínua, escuro contínuo e de 12 horas luz/12 horas escuro. A intensidade luminosa de 4.400 lumens foi dada por oito lâmpadas fluorescentes de 15 volts. Entre os meios de cultura testados, BDA favoreceu melhor a esporulação, principalmente quando as colônias foram submetidas a um regime alternado de 12 horas luz/12 horas escuro. Nos ensaios que visem obter inóculo em alta concentração, estas condições devem ser observadas.

Termos para indexação: Guaraná, *Paullinia cupana* var. *sorbilis*, fisiologia de fungos, *Colletotrichum guaranicola*.

PHYSIOLOGY OF *Colletotrichum guaranicola*: EFFECT OF CULTURE MEDIA AND LIGHT REGIME ON SPORULATION

ABSTRACT - The anthracnose of guaraná plants (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*) caused by *Colletotrichum guaranicola* is the most important disease of this crop in the Brazilian Amazon. The disease is spread throughout the main guaraná production areas such as Manaus, Maués, Itacoatiara and Parintins. Since very little information is available on the fungus physiology, a series of studies was undertaken aiming at obtaining information to help plant breeding and disease control programs. The fungus was grown on the following culture media: potato-dextrose-agar (PDA), potato-sucrose-agar (PSA), carrot-agar (CA), guaraná leaves-agar (GLA), Sabouraud (S) and Czapek Dox (CD). Petri dishes containing the fungus were kept on benches, under cool white illumination (8 General Electric fluorescent lamps, 15 watt) for 12 hours of illumination or darkness in each 24 hour cycle, at an intensity of 4,400 lumens at culture level, and temperatures of $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Among the culture media tested, PDA gave the best result for sporulation, mainly when fungal colonies were submitted to 12 hours light/12 hours darkness. Such conditions are recommended in cases where a high conidial production is required.

Index terms: Guaraná, *Paullinia cupana* var. *sorbilis*, fungal physiology, *Colletotrichum guaranicola*.

¹ Eng. - Agr., M.Sc., EMBRAPA-CPATU, Caixa Postal 48, CEP 66000 Belém, PA.

INTRODUÇÃO

A cultura do guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Duck) é afetada por vários patógenos, mas dentre eles o mais importante do ponto de vista econômico é sem dúvida o *Colletotrichum guaranicola* Albuquerque (1960).

O fungo, nos folíolos, causa manchas de coloração negra que se expandem rapidamente queimando grandes áreas e resultando na queda precoce. Em folíolos, no estágio de maturação intermediária, as manchas são localizadas, circulares, rodeadas por um halo amarelo tênue e de coloração parda avermelhada. Em condições de alta umidade podem surgir manchas de cor escura nos frutos.

Após a descrição do fungo, poucos estudos tem sido feitos visando conhecer o ciclo de vida do mesmo. Os conhecimentos das características fisiológicas de um patógeno são importantes para o estudo dos fenômenos envolvidos na patogenicidade (Kurtz & Fergus, 1964). Baseados nestes fatos, vários pesquisadores realizaram estudos fisiológicos de patógenos, tais como *Cercospora beticola* (Calpouzos & Stallknecht 1964), *Fusarium* spp. (Chi & Hanson 1964), *Colletotrichum corchorum* (Duarte et al. 1982), *Corynespora cassiicola* (Duarte et al. 1983).

Englander & Roth (1980), estudando o efeito da luz, observaram que houve maior produção de clamidospores de *Phytophthora lateralis* quando colônias foram mantidas no escuro.

Com o objetivo de caracterizar as condições ótimas para indução de maior índice de esporulação de *Colletotrichum guaranicola* foram conduzidos ensaios onde testaram-se diferentes meios de cultura submetidos a diferentes regimes de luz, no laboratório do Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido - CPATU.

MATERIAL E MÉTODOS

Nos ensaios foi usada a cepa D de *Colletotrichum guaranicola* devido a sua característica de alta patogenicidade.

Efeito de diferentes meios de cultura

Porções de colônia da cepa D foram transferidas para placas de Petri contendo o

meio de cultura BDA (batata-dextrose-água). Aos 20 dias retiraram-se discos de 3 mm de diâmetro da zona de crescimento ativo para o centro de placas de Petri contendo 20 ml dos meios de cultura BDA, BSA (batata-sucrose-água), farinha de aveia-água, raízes de cenoura-água, Sabouraud, Czapek-Dox e decocção de folhas de guaraná-água. As placas de Petri foram mantidas à temperatura de $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e em regime alternado de 12 horas de luz/12 horas de escuro, em câmara de crescimento. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com sete tratamentos e seis repetições. O cálculo do potencial de inóculo foi feito usando-se a fórmula de Tuite (1969), para esporos pequenos.

Efeito do regime luminoso

Discos de colônias da cepa D foram transferidos para placas de Petri contendo o meio de cultura BDA. Após a repicagem, as placas de Petri foram mantidas em condições de luz contínua, escuro contínuo e 12 horas de luz/12 horas de escuro, durante quinze dias e à temperatura de $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, na câmara de crescimento. A intensidade luminosa de 4.400 lumens foi dada por oito lâmpadas fluorescentes, tipo "daylight" marca Sylvania, de 15 volts. O delineamento experimental usado foi inteiramente casualizado com três tratamentos e dez repetições. Calculou-se o potencial de inóculo formado, como no experimento anterior.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Colônias de *Colletotrichum guaranicola* Albuquerque apresentaram um elevado índice de esporulação quando cultivadas em meio de cultura BDA e em regime alternado de 12 horas de luz/12 horas de escuro.

Dos meios de cultura testados, BDA, meio de cultura padrão para manutenção de grande número de fungos fitopatogênicos, foi o que mais favoreceu a esporulação. Em seguida, situaram-se como melhores BSA e Sabouraud. Czapek-Dox foi o meio de cultura que induziu menor índice de esporulação (Tabela 1). Houve diferença altamente significativa entre os tratamentos ao nível de 1% de probabilidade, segundo o teste de Tukey.

TABELA 1. Efeito de diferentes meios de cultura na esporulação de *Colletotrichum guaranicola*.

Meio de Cultura	Esporulação (cel/ml)
BDA	606.747 a
BSA	467.296 ab
Sabouraud	428.313 ab
Decocção de folhas de guaraná-ágar	355.986 b
Aveia-ágar	348.192 b
Raízes de cenoura-ágar	315.045 b
Czapek-Dox	271.260 b

Médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Quando cultivou-se o fungo no meio de cultura BDA em diferentes regimes de luz, observou-se maior índice de esporulação no regime alternado de 12 horas de luz/12 horas de escuro, seguido dos regimes de escuro e luz contínuos (Fig. 1).

A reação de patógenos a estímulos externos, tais como substâncias componentes de meios de cultura e à incidência luminosa tem

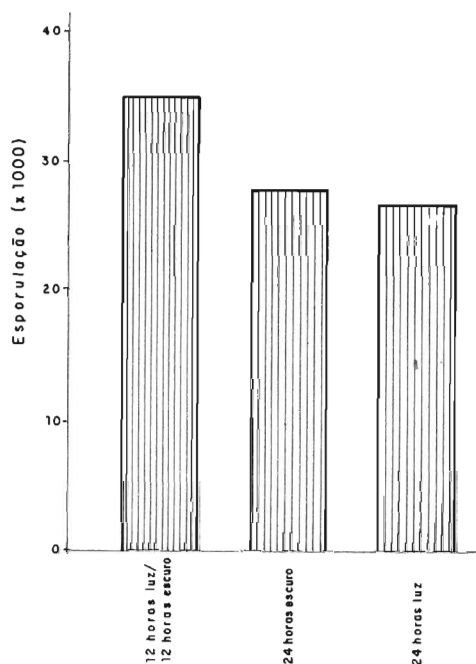


FIG. 1. Esporulação de colônias de *C. guaranicola* cultivadas em BDA e mantidas em três condições luminosas (média de seis repetições).

sido estudada por vários pesquisadores (Calpouzos & Stallknecht 1964, Seall 1976 e Machado 1980). Alguns patógenos necessitam de luz para a formação de estruturas reprodutivas. Duarte et al. (1982) notaram que *Colletotrichum corchorum* Ikata & Tana esporulou profusamente quando as colônias foram mantidas em regime de luz contínua. Posteriormente, trabalhando em dois isolamentos de *Corynespora cassicola* (Berk & Curt) Wei, Duarte et al. (1983) observaram que o isolamento do cacaueiro teve a esporulação induzida na presença de luz, enquanto que o isolamento do mamoeiro esporulou melhor na ausência de luz. Estudando alguns aspectos fisiológicos de *Phytophthora lateralis* Tucker & Milbrath, Englander & Roth (1980) observaram que houve maior produção de esporângios quando o fungo foi cultivado em meio de cultura contendo esterol, na presença de 24 horas e doze horas de luz do que no escuro, evidenciando o efeito benéfico da luz na indução da esporulação de *P. lateralis*. *C. guaranicola* apresentou um elevado índice de esporulação quando as colônias foram mantidas em um regime alternado de 12 horas de luz/12 horas de escuro.

Em relação à nutrição, *C. guaranicola* parece ser pouco exigente, já que cresceu e esporulou muito bem no meio de cultura BDA. Embora não tenha sido testado o efeito da temperatura, a faixa de $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ parece ser adequada ao desenvolvimento do patógeno.

Em trabalhos que visem produzir elevado nível de inóculo, *C. guaranicola* deve ser cultivado no meio de cultura BDA e as colônias mantidas nas condições de 12 horas de luz/12 horas de escuro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, F.C. *Antracnose do guaraná*. Belém, IAN, 1960, 33p. (IAN. Boletim técnico, 40).
- CALPOUZOS, L. & STALLKNECT, G.F. Sporulation of *Cercospora beticola* affected by light and darkness. *Phytopathology*, 54:890, 1964 (Abstract).
- CHI, C.C. & HANSON, E.W. Relation of temperature, pH and nutrition of growth and sporulation of *Fusarium* spp from red clover. *Phytopathology*, 54:1053-8, 1964.
- DUARTE, M.L.R.; NUNES, A.M.L. & ALBUQUERQUE, F.C. Influência de meios de cultura, pH e do regime luminoso no crescimento e esporulação de *Colletotrichum corchorum* Ikata & Tana. Belém. EMBRAPA-CPATU, 1982. 19p. (EMBRAPA-CPATU. Boletim de Pesquisa, 48).
- DUARTE, M.L.R.; ASANO, S. & ALBUQUERQUE, F.C. Estudo comparativo das características morfológicas e fisiológicas de dois isolamentos de *Corynespora cassicola*. *Fitopatologia brasileira*, 8(2):205-14, 1983.
- ENGLANDER, L. & ROTH, L.F. Interaction of light and sterol on sporangium and chlamidospores production by *Phytophthora lateralis*. *Phytopathology*, 70(7):650-4, 1980.
- KURTZ, E.B. & FERGUS, C.L. Nitrogen nutrition of *Colletotrichum coccodes*. *Phytopathology*, 54:691-2, 1964.
- MACHADO, C.C. *Esporulação de Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid e viabilidade do método de inoculação de esporos em estudos de seleção de germoplasma resistente. São Paulo, ESALQ, 1980. 66p. Tese de mestrado.
- SEALL, P.J. *Esporulação e patogenicidade de Diaporthe phaseolorum* (Cke.) Ell var. *sojae* (Lehman) Wehmeyer. São Paulo, ESALQ, 1976. 60p. Tese de mestrado.
- TUITE, J. *Plant Pathological methods*. Minneapolis, Burgess, 1969, 239p.