

## Esporulação de *Pyricularia grisea* em diferentes meios de cultura e regimes de luz

### Sporulation of *Pyricularia grisea* on different culture media and light regimes

Maria Fernanda Antunes da Cruz<sup>I\*</sup> Ariano Moraes Prestes<sup>I</sup>  
João Leodato Nunes Maciel<sup>II</sup>

#### -NOTA-

#### RESUMO

Diferentes fatores influenciam o crescimento e a esporulação dos fungos, tais como: composição do meio de cultivo, temperatura e luz. O objetivo do trabalho foi determinar o melhor meio de cultivo e regime de luz para a esporulação de *Pyricularia grisea*. Um isolado deste, obtido da cultivar de trigo 'BRS 194', foi repicado por disco micelial em oito meios de cultivo (farinha integral de arroz, aveia, centeio, cevada, trigo, triticale; BSA e extrato de tomate) e submetido a três regimes de luz (escuro, fotoperíodo de 12h e luz contínua). As placas permaneceram por 10 dias, em câmara de crescimento sob temperatura de 23-25°C. Em seguida, o número de conídios foi determinado em câmara de Neubauer. O meio de cultivo à base de farinha integral de trigo propiciou a maior esporulação do fungo em todos os regimes de luz, e a maior esporulação ocorreu em regime de luz contínua para todos os meios de cultivos testados. Os meios de arroz e BSA propiciaram uma menor produção de conídios pelo fungo.

**Palavras-chave:** brusone, inóculo, conídios.

#### ABSTRACT

A set of conditions is necessary for the growth and sporulation of fungi, particularly the composition of culture media, temperature and light. The objective of this research was to determine the ideal culture medium and light regime for the sporulation of *P. grisea*. Micelial discs of an isolate, obtained from cultivar 'BRS 194' of wheat, were transferred to eight culture media (rice wholemeal, oat, rye, barley, wheat, triticale, PSA and tomato sauce) and kept in the dark, under continuous light and 12h of light. In a growing chamber, for 10 days at 23-25°C. Then, the number of conidia was determined in a Neubauer chamber. The higher sporulation, regardless of light regime, was observed on wheat wholemeal culture medium.

*The continuous light provided higher sporulation this fungus in all culture medium. The lowest production of conidia was observed on rice wholemeal and PSA culture media.*

**Key words:** blast, inoculum, conidia.

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. As características culturais de *P. grisea* do arroz variam de acordo com o isolado e meio de cultura utilizado (SOAVE et al., 1975; KUMAR & SINGH, 1995). A composição do meio de cultura, assim como a temperatura e o regime de luz, influenciam a esporulação de *P. grisea* do arroz. Os meios mais utilizados para a produção de esporos desse fungo são: aveia-ágar, farelo de arroz-ágar e suco V-8. A temperatura ideal para esporulação é de 28°C, favorecida por períodos alternados de luz e escuro (FILIPPI & PRABHU, 2006). Porém, poucas são as informações referentes à esporulação de *P. grisea* do trigo *in vitro*. Dessa forma, a identificação do meio de cultura e regime de luz que favoreçam a esporulação pode vir a contribuir para a padronização da produção do inóculo. O objetivo deste estudo foi verificar a melhor combinação entre regime de luz e meio de cultura que propicie a maior produção de esporos pelo fungo *P. grisea* do trigo.

<sup>I</sup>Programa de Pós-graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo (UPF), CP 611, 99001-970, Passo Fundo, RS, Brasil. E-mail: fertunes@bol.com.br. \*Autor para correspondência.

<sup>II</sup>Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS, Brasil.

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Trigo, em Passo Fundo, Rio Grande do Sul (RS). O isolado de *P. grisea* utilizado foi obtido a partir de lesões do ráquis da cultivar de trigo BRS 194 e repicado em meio aveia-ágar "AA" (aveia, 60; ágar, 12g L<sup>-1</sup>). Foram testados os meios de cultura: farinha integral de arroz, aveia, centeio, cevada, trigo e tritcale, BSA e extrato de tomate. Para os meios de cultivo à base de farinha integral, foram selecionados grãos não tratados com fungicida e moídos até granulometria de 0,8Å. Cada meio de farinha integral foi composto por 15g de ágar, e 50g de farinha integral em um litro de água destilada. Para o meio BSA foram necessários 140g de batata com casca, 10g sacarose e 15g ágar; e para o meio de extrato de tomate: 15g de ágar, 3g de CaCO<sub>3</sub> e 200g de extrato de tomate. Em ambos, os volumes foram ajustados para um litro de água destilada. Os ingredientes de cada substrato foram colocados em frascos Erlenmeyer e em seguida, autoclavados por 15min, a 127°C e 1,5atm. Em seguida, os meios de cultura foram vertidos em placas de Petri (20mL<sup>-1</sup>placa<sup>-1</sup>), em câmara de fluxo laminar.

Um disco de 5mm de diâmetro do fungo mantido em meio AA foi transferido para o centro das placas, que foram distribuídas aleatoriamente em câmara de crescimento a 23±2°C, sob três regimes de luz. Escuro (placas cobertas com papel alumínio), fotoperíodo de 12h, iniciando com escuro (lâmpadas fluorescente LD Philips 20W) e luz contínua. Em ambos os tratamentos, as lâmpadas foram mantidas a 35cm de distância das placas. As placas foram mantidas por 10 dias em câmara de crescimento. Após esse período, determinou-se o número de conídios mL<sup>-1</sup> em cada placa. Para liberação dos conídios, foram utilizados 10mL<sup>-1</sup> de água destilada e um pincel de cerdas macias. De cada placa, foram feitas três lâminas, e procedeu-se à leitura de 10 campos da câmara de Neubauer. O delineamento experimental utilizado foi o

completamente casualizado, e a análise foi bifatorial (meios de cultivo X regimes de luz). Cada tratamento foi composto de cinco repetições (placas) e submetido aos três regimes de luz. Os dados de esporulação foram transformados para logaritmo e submetidos à análise da variância. As médias foram comparadas pelo teste Tukey (5%) de significância, utilizando o programa estatístico R<sub>2.7.1</sub>.

O número de esporos produzidos por *P. grisea* do trigo variou com o meio de cultura e regime de luz. Independentemente do regime de luz, a maior esporulação ocorreu no meio de farinha de trigo e a menor, nos meios de aveia, arroz e BSA (Tabela 1). Em fotoperíodo 12h, a maior esporulação ocorreu no meio de farinha integral de trigo, seguida pelos meios com farinhas integrais de centeio, cevada e tritcale, que não diferiram entre si. Em luz contínua, além do meio de farinha integral de trigo, destaca-se também o meio de cevada. O regime de luz contínua destacou-se por propiciar a duplicação do número de conídios para a maioria dos meios de cultivo. A menor produção de conídios ocorreu em ausência de luz, exceto no meio de cultura com farinha integral de trigo (Tabela 1).

A composição e concentração de nutrientes no substrato, o requerimento nutricional e a variabilidade fisiológica do isolado, além das condições ambientais, podem influenciar a multiplicação de conídios de fungos fitopatogênicos. No presente trabalho, apenas foi possível explorar a combinação, a composição do meio de cultivo e o regime de luz de um isolado de *P. grisea* do trigo. Essa revelou uma preferência do isolado em produzir um número maior de conídios no meio de farinha integral de trigo, independentemente do regime de luz. Embora tenha sido utilizado apenas um isolado do fungo no presente experimento, a especificidade de esporulação de isolados de *P. grisea* do arroz em meio de cultivo de

Tabela 1 - Esporulação de *Pyricularia grisea* em diferentes regimes de luz e meios de cultura. Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS.

Regime de luz	-----Meios de cultura-----							
	arroz	aveia	BSA	centeio	cevada	extrato	trigo	tritcale
Escuro	C 0,01 <sup>1</sup> c	0,00 c <sup>2</sup>	0,02 c	0,09 bc	0,13 b	0,11 b	0,21 a	0,07 bc
Fotoperíodo 12 h	B 0,11 e	0,24 d	0,05 e	0,43 b	0,39 bc	0,34 c	0,61 a	0,36 bc
Luz contínua	A 0,21 f	0,48 e	0,08 g	0,77 b	0,65 c	0,57 d	1,00 a	0,65 c
Média	0,31							
CV (%)	37							

<sup>1</sup>Os valores devem ser multiplicados por 10<sup>6</sup> para determinação da concentração de conídios mL<sup>-1</sup>.

<sup>2</sup>Médias seguidas da mesma letra minúscula, na linha, e maiúscula, na coluna, não diferiram entre os tratamentos (Tukey a 5% de significância).

farelo de arroz já foi descrita por outros autores (SOAVE et al., 1975; KUMAR & SINGH, 1995). Em relação aos meios de cultivo frequentemente utilizados na rotina dos laboratórios, para esporulação de isolados de *P. grisea* estão os meios à base de farinha de aveia e arroz (KUMAR & SINGH, 1995). Dessa forma, o experimento traz o meio de cultivo composto de farinha integral de trigo como uma opção ao meio de aveia para garantir a maior esporulação de *P. grisea* do trigo, em especial no regime de luz contínua (Tabela 1).

A menor esporulação do fungo *P. grisea* em ausência de luz já havia sido relatada por KATO & DIMOND (1966). De acordo com esses autores, a produção de conidióforos em ausência de luz é mais lenta quando comparada à presença de luz e dificilmente gera conídios. A maior esporulação de *P. grisea* em luz contínua pode estar relacionada ao estresse propiciado pela intensidade luminosa constante, uma vez que esta provocaria um maior ressecamento do meio de cultivo, induzindo o fungo a gerar um número maior de descendentes.

Para o isolado de *P. grisea* do trigo testado no experimento, a combinação que propiciou a maior esporulação do fungo foi meio de farinha integral de trigo em luz contínua.

## REFERÊNCIAS

- FILIPPI, M.C.; PRABHU, A.S. Biologia e genética de *Pyricularia grisea*. In: PRABHU, A.S.; FILIPPI, M.C. **Brusone em arroz: controle genético, progresso e perspectiva**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. Cap.1, p.17-68.
- KATO, H., DIMOND, A.E. Factors affecting sporulation of the rice blast fungus, *Pyricularia oryzae*. **Phytopathology**, v.56, p.864-865, 1966.
- KUMAR, A.; SINGH, R.A. Differential response of *Pyricularia grisea* isolates from rice, finger millet and pearl millet to media, temperature, pH and light. **Indian Journal of Mycology and Plant Pathology**, v.25, p.238-242.1995.
- SOAVE, J. et al. Estudo do crescimento vegetativo e da esporulação de *Pyricularia oryzae* Cavara, agente causador da brusone do arroz. **Summa Phytopathologica**, v.1, p.187-193. 1975.