

CRESCIMENTO MICELIAL E ESPORULAÇÃO DE ISOLADOS DE *Lasiodiplodia theobromae* EM SUBSTRATOS VEGETAIS

Joilson Silva Lima¹; José Emilson Cardoso²; Renato Cesar Moreira¹; Edson Souza Alves¹;
Francisco Aldiel Lima³; Raul Monte dos Anjos³; Francisco Marto Pinto Viana²

¹Estudante de Mestrado em Agronomia/Fitotecnia – Universidade Federal do Ceará, Av. Mister Hull, 2977, Campus do Pici, CEP: 60.356-001, Fortaleza-CE; ²Engenheiro Agrônomo - Embrapa Agroindústria Tropical; ³Estudante de Agronomia – Universidade Federal do Ceará. E-Mail: joilsonagro@gmail.com

INTRODUÇÃO

O fungo *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon Maubl. é um fungo polífago, capaz de infectar, isoladamente ou em associação com outros patógenos, mais de 500 espécies vegetais, estando as anacardiáceas, as anonáceas, o coqueiro, a bananeira, a aceroleira e o sapotizeiro como as frutíferas mais comumente afetadas (FREIRE e CARDOSO, 2003). A resinose, doença causada por *L. theobromae*, é a principal doença do cajueiro (*Anacardium occidentale*) no semi-árido nordestino (CARDOSO et al., 2009).

As características de *L. theobromae* são bastante variáveis, e dependendo da origem do isolado e do meio em que é cultivado, o fungo pode apresentar variação na coloração da colônia, no crescimento micelial e na esporulação (HALFELD-VIEIRA et al., 2007). Os mesmos autores citam ainda que os meios BDA e V8 são os mais utilizados para o cultivo de isolados desse fungo. Em outros trabalhos, Begoude et al. (2010) e Damm et al. (2007) utilizando acículas de pinheiro em meio Ágar obtiveram êxito em induzir esporulação de isolados de Botryosphaeriaceae. O objetivo deste estudo foi estabelecer um meio de cultura padrão para crescimento e esporulação de isolados de *L. theobromae* associados às fruteiras tropicais.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram obtidas 5 culturas puras de *L. theobromae*, 2 de cajueiro (um isolado de uma planta com sintomas de PPH - podridão-preta-da-hastes, e outro isolado de uma planta com sintoma típico de resinose), do município de Pio IX-PI. Os demais foram isolados de plantas com sintomas de morte descendente de cirigueleira (*Spondias purpúrea*), cajaraneira (*Spondias dulcis*) e gravioleira (*Annona muricata*) coletadas nos municípios Pacajus-CE, Fortaleza-CE e Hidrolândia-CE, respectivamente.

Discos de micélio dos 5 isolados de *L. theobromae* foram colocados no centro de placas de Petri contendo 6 diferentes meios de cultura: ágar-ágar (AA), ágar-acículas de pinheiro (AP), ágar-caju (ACA), ágar-ciriguela (ACI), ágar-cajarana (ACAJ) e ágar-graviola (AGR). O meio ágar foi preparado a 2%. Os demais meios, a exceção do AP, foram preparados utilizando fragmentos do material lenhoso das plantas que lhes dão os nomes, triturados em liquidificador. Foram utilizados 2% de substrato vegetal que, depois de triturados, foram autoclavados e misturados, separadamente, ao meio ágar a 2%, imediatamente antes de verter os meios em placas de Petri. As placas de Petri, com os discos de micélio dos fungos foram levadas para incubadora a 28 °C e mantidas sob fotoperíodo de 12 h. O experimento foi conduzido em DIC, no esquema fatorial 6x5, com 5 repetições, sendo cada repetição uma placa de Petri. Avaliou-se o crescimento micelial e picnidiósporos aos 25 dias de incubação. Para a determinação do número de picnidióporos, cada meio de cultura com crescimento fúngico foi triturado em liquidificador com 40 ml de água destilada e coando-se o material resultante em gaze dupla. A suspensão de esporos.mL⁻¹ foi quantificada em câmara de Neubauer. As análises foram realizadas com o uso do programa Sisvar, versão 5.3, desenvolvido na Universidade Federal de Lavras.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação do crescimento micelial houve efeito significativo dos meios de cultura e dos isolados de *L. theobromae*, havendo interação entre os fatores ao nível de 1%. O meio de cultura AP proporcionou, significativamente, um maior crescimento micelial, sendo que os fungos isolados de cirigueleira e cajaraneira apresentaram, estatisticamente, maior crescimento micelial (Tabela 1).

Tabela 1. Médias¹ do efeito da Interação entre meios de cultura e isolados no crescimento micelial (cm².dia⁻¹) de *L. theobromae*.

Meios de cultura	Isolados				
	Cajueiro (resinose)	Cajueiro (PPH)	Cirigueleira	Cajaraneira	Gravioleira
Agar	16,29 ^{Aa}	16,85 ^{Aa}	31,33 ^{Ab}	25,56 ^{Ab}	28,31 ^{Ab}
ACAJ	22,90 ^{ABa}	19,68 ^{ABa}	43,36 ^{Bb}	42,75 ^{Bc}	34,79 ^{ABc}
ACA	28,15 ^{Ba}	21,83 ^{ABa}	45,65 ^{Bb}	41,12 ^{Bb}	39,77 ^{Bb}
ACI	26,39 ^{Ba}	21,21 ^{ABa}	40,02 ^{Bb}	45,30 ^{Bb}	40,55 ^{BCb}
AGR	28,20 ^{Ba}	24,52 ^{Ba}	44,84 ^{Bb}	46,61 ^{Bc}	37,10 ^{Bc}
AP	49,30 ^{Cb}	25,85 ^{Ba}	45,31 ^{Bb}	48,01 ^{Bb}	47,50 ^{Cb}

CV = 12,13%

¹Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Diferentemente dos resultados obtidos por Halfeld-Vieira et al.(2007), na avaliação do crescimento micelial, houve interação entre os fatores, tendo ocorrido ainda, efeito significativo tanto do meio de cultura, como também dos isolados de *L. theobromae*, isoladamente. Contudo, esses autores utilizaram meios de cultura e isolados diferentes daqueles relatados neste trabalho. Os isolados de cirigueira e cajaraneira foram estatisticamente iguais entre si e diferentes dos outros isolados e apresentaram maior crescimento micelial. Já os isolados de resinose, PPH e gravioleira forma estatisticamente diferentes, tendo o isolado de PPH o menor crescimento micelial,

No que se refere ao número de picnidiosporos formados, houve efeito significativo dos meios e dos isolados de *L. theobromae* e interação entre os fatores ($P < 0,01$). O meio de cultura AP proporcionou a maior esporulação, seguido pelo meio ACI. Entre os isolados de *L. theobromae*, o causador da resinose foi significativamente diferente dos demais isolados e apresentou a maior produção de picnidiosporos (Tabela 2).

Tabela 2. Médias² do efeito da interação entre meios de cultura e isolados de *L. theobromae* na produção de picnidiosporos.mL⁻¹ aos 25 dias após a repicagem.

Meios de cultura	Isolados					
	Cajueiro (resinose)	Cajueiro (PPH)	Cirigueira	Cajaraneira	Gravioleira	
Agar	8666,6 ^{Aa}	0,0 ^{Aa}	0,0 ^{Aa}	666,6 ^{Aa}	0,0 ^{Aa}	
ACAJ	6000,0 ^{Aa}	666,6 ^{Aa}	1333,3 ^{Aa}	12000,0 ^{ABa}	0,0 ^{Aa}	
ACA	13333,3 ^{Ab}	4666,6 ^{ABab}	0,0 ^{Aa}	14000,0 ^{Bb}	0,0 ^{Aa}	
ACI	26000,0 ^{Bb}	5333,3 ^{ABa}	0,0 ^{Aa}	20000,0 ^{Bb}	666,6 ^{Aa}	
AGR	14000,0 ^{ABb}	0,0 ^{Aa}	0,0 ^{Aa}	10000,0 ^{ABa}	0,0 ^{Aab}	
AP	59333,3 ^{Cd}	15333,3 ^{Bb}	1333,3 ^{Aa}	36666,6 ^{Cc}	666,6 ^{Aa}	

CV = 40,29%

²Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Conforme Halfeld-Vieira et al.(2007), existe variação na produção de esporos pelo isolado de *L. theobromae*, dependendo da origem e do meio em que o fungo é cultivado. Os isolados de cajueiro (resinose) e cajaraneira esporularam em todos os meios de cultura. O meio AP possibilitou a esporulação de todos os isolados de *L. theobromae*, demonstrando a eficiência de meios de cultura com acículas de pinheiro (Tabela 2). Os resultados deste ensaio corrobora os obtidos por Begoude et al. (2010) e Damm et al. (2007) que utilizaram meios de cultura com acículas de pinheiro na indução da esporulação de isolados da família Botryosphaeraceae, incluindo espécie de *Lasiodiplodia*.

CONCLUSÕES

O meio com acículas de pinheiro induz maior crescimento micelial e produção de esporos do fungo *L. theobromae*.

O meio com fragmentos de cirigueleira é eficaz na produção de esporos de *L. theobromae*. Existem diferenças entre os isolados de *L. theobromae* quanto ao crescimento micelial e produção de picnidiosporos nos meios testados.

REFERÊNCIAS

BEGOUDE, B. A. D.; SLIPPERS, B.; WINGFIELD, M. J.; ROUX, J. Botryosphaeriaceae associated with *Terminalia catappa* in Cameroon, South Africa and Madagascar. **Mycol Progress**, v.9, p. 101–123, 2010.

CARDOSO, J. E.; BEZERRA, M. A.; VIANA, F. M. P.; SOUSA, T. R. M.; CYSNE, A. Q.; FARIAS, F. C. Ocorrência endofítica de *Lasiodiplodia theobromae* em tecidos de cajueiro e sua transmissão por propágulos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 35, n. 4, p. 262-266, 2009.

DAMM, U.; CROUS, P. W.; FOURIE, P. H. Botryosphaeriaceae as potential pathogens of *Prunus* species in South Africa, with descriptions of *Diplodia africana* and *Lasiodiplodia plurivora* sp. nov. **Mycologia**, v. 99, n. 5, p. 664-680, 2007.

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.

HALFELD-VIEIRA, B. A.; NECHET, K. L.; SOUZA, G. R. **Influência de meios de cultura e regimes de luz na esporulação e crescimento micelial de *Lasiodiplodia theobromae***. Boa Vista: Embrapa-CPAFRR, 2007. 14p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 02).