

# **AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO DE ESPOROS DO FUNGO *Asperisporium caricae* EM MEIOS DE CULTURA**

Joilson Silva Lima<sup>1</sup>; Kairo Araújo e Aragão<sup>2</sup>; Francisco Aldiel Lima<sup>2</sup>; Marlon Vagner Valentim Martins<sup>3</sup>; Francisca Samara Assunção de Oliveira<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Aluno de Mestrado - Universidade Federal do Ceará – Campus Pici, Fortaleza-CE; <sup>2</sup>Agronomia - Universidade Federal do Ceará; <sup>3</sup>Eng<sup>o</sup>. Agr<sup>o</sup>. D.Sc. - Embrapa Agroindústria Tropical, rua Dra. Sara Mesquita, 2270, Pici – Fortaleza-CE, Cep: 60511-110; <sup>4</sup>Laboratório de Fitopatologia - Embrapa Agroindústria Tropical. E-mail: valentim@cnpat.embrapa.br

## **INTRODUÇÃO**

A varíola ou pinta-preta do mamoeiro é uma doença causada pelo fungo *Asperisporium caricae* que infecta folhas e frutos, prejudicando a produção da planta. As lesões nas folhas interferem nos processos fotossintéticos da planta e em frutos, depreciam o seu valor comercial (LIBERATO, 2002). Folhas muito atacada pela doença tendem a senescer mais rápido e caem no chão podendo se constituir como uma fonte de inóculo da doença para novas infecções (ADIKARAM e WIJEPALA, 1995). Os frutos infectados também se constituem em fontes de doença que pode ser disseminada por correntes de vento ou respingos da água da chuva ou de irrigação. As medidas de controle são baseadas principalmente na utilização de fungicidas e a eficiência do controle não depende apenas dos fungicidas recomendados para o controle da doença, mas a tecnologia de aplicação torna-se importante dentro do sistema. Trabalhos que descrevam a viabilidade dos esporos do fungo em folhas senescentes ou caídas no chão, bem como a viabilidade do fungo após as pulverizações reforçam as tecnologias desenvolvidas para o controle da doença. Rossi *et al.* (2008) desenvolveram um trabalho para verificar a germinação *in vitro* dos esporos de *A. caricae* e concluíram que a porcentagem de germinação tende a ser crescente em papel celofane com suspensão de esporos em óleo mineral, porém o crescimento de contaminantes prejudicou a contagem dos esporos germinados após 48h de incubação. Portanto, este trabalho objetivou-se desenvolver uma metodologia que favoreça a uma efetiva germinação dos esporos de *A. caricae* em um curto espaço de tempo.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Os ensaios *in vitro* foram realizados no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Agroindústria Tropical no período de abril a julho de 2010. Foram coletadas folhas de mamoeiro infectadas pelo fungo *A. caricae*, que foram preservadas em câmara úmida (sacos plásticos umedecidos com ar injetado (sopro)) e armazenadas em geladeira por não menos que 48

horas. Após este tempo foram retiradas 60 pústulas das folhas do mamoeiro distribuídas igualmente em dois microtubos de 2 ml tipo Eppendorf®: um microtubo contendo 1 ml de óleo mineral e outro microtubo com 1 ml água estéril e tween 20 (0,05%). Após uma ligeira agitação no agitador Vortex® preparou-se uma suspensão de esporos na concentração de  $1,3 \times 10^6$  esporos/ml.

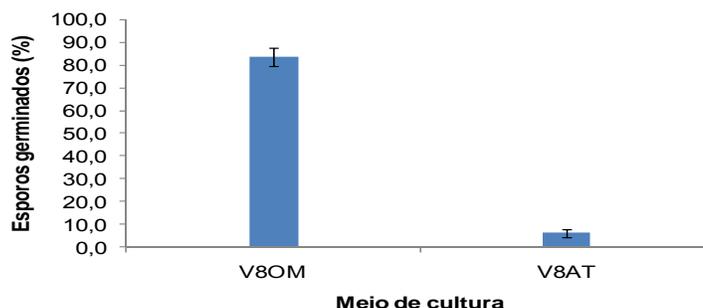
Foram retirados 100 µl da suspensão de esporos obtidas dos microtubos e depositados em meios de cultura V8, Ágar e BCA (Batata Cenoura Ágar), acrescidos de antibióticos (Chloramphenicol (0,01%)). Os meios de cultura foram incubados em câmaras de crescimento a 26-28°C por 24h e fotoperíodo de 12h.

Foram avaliados com auxílio de um microscópio de luz Nikon Eclipse E200 a viabilidade do fungo através da germinação dos esporos, cujo tubo germinativo foi superior a 5µm (ROSSI et al., 2008).

No primeiro ensaio e sobre o meio V8, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 2 tratamentos (óleo mineral e água esterilizada com tween 20) e 4 repetições. No segundo, utilizou-se o DIC com 4 tratamentos (V8 e Ágar) x (óleo mineral e água esterilizada com tween 20) e 4 repetições. No terceiro, semelhante ao segundo, 6 tratamentos (V8, Ágar e BCA) x (óleo mineral e água esterilizada com tween 20). Efetuou-se a ANOVA e o teste de médias Tukey, a 0,01% de probabilidade.

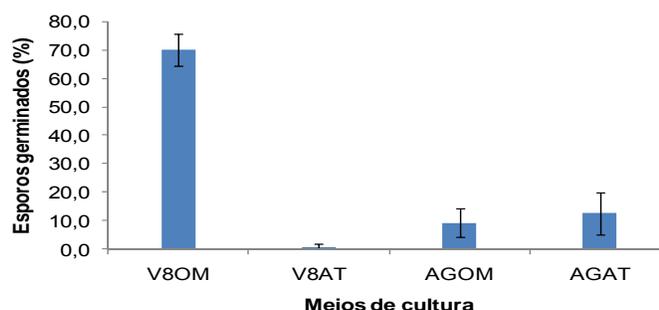
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No primeiro ensaio, houve efeito significativo dos veículos utilizados no preparo da suspensão do inóculo e a porcentagem de germinação dos esporos de *A. caricae* no meio V8 com óleo mineral foi maior que 80%, ao passo que na suspensão formada de água + tween 20% a germinação foi inferior a 10% (Figura 01).



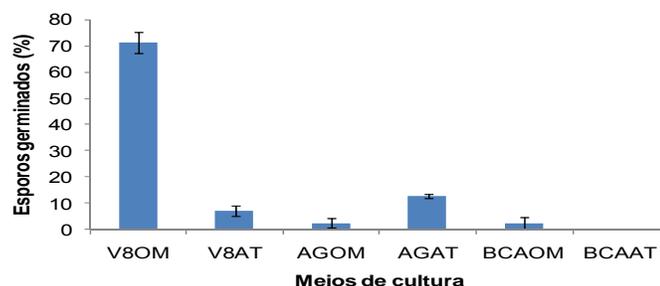
**Figura 01.** Porcentagem de esporos de *A. caricae* germinados em meio de cultura V8 veiculados com óleo mineral (OM) e água + tween 20 (AT). As barras indicam o desvio padrão.

No segundo ensaio, observou-se que houve diferença significativa entre os meios de cultura e entre os veículos utilizados no preparo da suspensão do inóculo e, interação significativa entre estes dois fatores. Verificou-se que em meio V8 com óleo mineral a germinação dos esporos do fungo alcançou 70%, ao passo que no mesmo meio de cultura (V8) com suspensão veiculada com água + tween 20 a germinação não passou de 1% no período de 24h. Quando se testou o meio de Ágar tanto com óleo mineral quanto com água + tween 20, observou-se que este não foi importante para a germinação dos esporos (Figura 02).



**Figura 02.** Porcentagem de esporos de *A. caricae* germinados em meio de cultura V8 e Ágar (AG) veiculado com óleo mineral (OM) e água + tween 20 (AT). As barras indicam o desvio padrão.

No terceiro ensaio, já com a inclusão do meio BCA, a germinação dos esporos de *A. caricae* seguiu a mesma tendência do verificado no ensaio anterior. Novamente, o meio V8 com a suspensão de óleo mineral foi o melhor tratamento para a germinação de mais de 70% dos esporos submetidas às mesmas condições de incubação. Excetuando o meio V8, os demais meios foram estatisticamente iguais tanto com a suspensão em óleo mineral quanto para água + tween 20 (Figura 03).



**Figura 03.** Porcentagem de esporos de *A. caricae* germinados em meio de cultura V8, Ágar (AG) e BCA veiculado com óleo mineral (OM) e água + tween 20 (AT). As barras indicam o desvio padrão.

A importância do óleo mineral na germinação dos esporos de *A. caricae* foi verificada por Rossi *et al.* (2008). Nossos resultados estão de acordo com esses autores e indicaram que o óleo mineral foi o veículo mais eficiente na germinação dos esporos do fungo.

Neste ensaio, o efeito provocado pelo meio V8 associado ao óleo mineral resultou na efetiva germinação evidenciada pela emissão de tubos germinativos em cada extremidade dos conídios ou algumas vezes, em outros locais da sua superfície. Nenhuma formação de apressórios foi observada. Além do mais, o tubo germinativo emitido foi maior que a largura ou o comprimento do esporo.

### CONCLUSÃO

O meio V8 com a suspensão veiculada com óleo mineral é o mais indicado para a germinação dos esporos de *A. caricae*.

### REFERÊNCIAS

ADIKARAM, N. K. B.; WIJEPALA, M. *Asperisporium* Black spot in *Carica papaya*: a new disease in Sri Lanka. *Journal of the National Science Council of Sri Lanka*, v. 23, p.213 – 219, 1995.

CHAMBERS, K. R.; RIJKENBERG, F. H. J. Culture of *Asperisporium caricae*, the papaya black spot organism. *Phytophylactica*, v. 19, n° 1, p.113. 1988.

LIBERATO, J. R. Controle de doenças causadas por fungos, bactérias e nematóides em mamoeiro. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R. do; MONTEIRO, A.J.A.; COSTA, H. (eds). **Controle de doenças de plantas: fruteiras**. Viçosa, Minas Gerais, v.2, 2002. p.1023-1170.

ROSSI, D. A.; COSTA, A. F.; ROSSI, D. F.; ENTRINGER, G. C.; DAHER, R. F.; SILVEIRA, S. F. Germinação *in vitro* de conídios de *Asperisporium caricae* (Speg) Maubl. agente causal da pinta-preta do mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Anais do XX Congresso Brasileiro de Fruticultura e 54th Annual Meeting of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**, Vitória-ES. 2008 (CD-Rom).