



## PRODUÇÃO DE ESPOROS DE *RAMULARIA AREOLA* EM GRÃOS DE ARROZ

Juliano Cesar da Silva<sup>1</sup>; Wagner Bettiol<sup>2</sup>; Rafael Galbieri<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> UNESP - Botucatu; <sup>2</sup> Embrapa Meio Ambiente;

<sup>3</sup> Instituto Mato-grossense do Algodão.

**RESUMO** - No Brasil, a mancha de ramulária do algodoeiro, causada por *Ramularia areola* (*R. areola*) tem ocorrido mais precocemente nos últimos anos, causando desfolha prematura e implicando na necessidade de controle com fungicidas. Para realizar estudos com esse patógeno, há necessidade de produção de esporos do fungo. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a produção de esporos de *Ramularia areola* isolado IMA 244 em grãos de arroz, com e sem a adição de 1% de dextrose, bem como do período de incubação. Foram avaliados os seguintes tratamentos: 1 – *R. areola* cultivado em grãos de arroz + dextrose (1%) por sete dias, 2 – *R. areola* cultivado em grãos de arroz por sete dias, 3 – *R. areola* cultivado de grãos de arroz + dextrose (1%) por 14 dias, 4 – *R. areola* cultivado em grãos de arroz por 14 dias, 5 – *R. areola* cultivado em grãos de arroz + dextrose (1%) por 21 dias, 6 – *R. areola* cultivado em grãos de arroz por 21 dias, 7 – *R. areola* cultivado em grãos de arroz + dextrose (1%) por 28 dias e 8 – *R. areola* cultivado em grãos de arroz por 28 dias. Após o período de incubação, uma amostra de 10 g de arroz colonizado foi adicionada a 90 mL de água destilada esterilizada com 0,1% de Tween 80 para determinar a produção de esporos. A produção de esporos foi abundante independentemente da adição de dextrose. Entretanto, o isolado IMA 244 apresentou a maior produção de conídios aos 28 dias de cultivo em grão de arroz sem dextrose.

**Palavras-chave:** *Ramularia areola*; Algodoeiro; Conídios.

### INTRODUÇÃO

No Brasil, a mancha de ramulária, causada pelo fungo *Ramularia areola* (*R. areola*) historicamente sempre foi considerada uma doença secundária, que ocorria no final do ciclo e auxiliava na desfolha da planta (CIA, 1977; CIA; SALGADO, 1997). Entretanto, a partir de 1998, com o incremento da área cultivada, monocultivo e a utilização de cultivares suscetíveis à doença, a mancha de ramulária passou a ocorrer mais cedo e a causar desfolha prematura, implicando na necessidade de controle (SUASSUNA et al., 2006; CHITARRA, 2008). Devido à importância econômica da mancha de ramulária do algodoeiro, para realizar estudos com a doença, se torna necessário a determinação da esporulação da *R. areola* em diferentes meios de cultura. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a esporulação de *R. areola* isolado IMA 244 em grão de arroz autoclavado, com e sem a adição de dextrose, e do período de incubação.

## METODOLOGIA

O isolado IMA 244 foi obtido de plantas de algodoeiro, localizadas no Município de Montividiú, GO. Para multiplicação, 100 µL de uma suspensão de conídios ( $1 \times 10^6$  conídios mL<sup>-1</sup>) do fungo foram transferidos para o meio de cultura V8 e incubado por sete dias, sob luz contínua e temperatura de 25 °C. Após sete dias foi obtida uma suspensão de conídios para a realização dos estudos que foi ajustada para a  $1 \times 10^6$  conídios mL<sup>-1</sup>.

Para preparar o meio de cultura, 100 g de grão de arroz foi colocado de molho em água por 12 h, após este período foi retirado o excesso de água com o auxílio de uma peneira, e o arroz foi acondicionado em sacos plásticos de polipropileno, sendo adicionado ou não 1% de dextrose. O arroz foi autoclavado duas vezes a 121 °C a 1 atm, durante 20 minutos. Para cada 100 g de arroz esterilizado foi adicionado 200 µL da suspensão de  $1 \times 10^6$  conídios mL<sup>-1</sup> de *R. areola*. O fungo foi cultivado a 25 °C, com fotoperíodo de 12 h. O delineamento experimental foi o inteiramente ao acaso, sendo utilizado quatro repetições/tratamento.

Os tratamentos consistiram:

- 1 – *R. areola* isolado IMA 244 cultivado em grãos de arroz + dextrose (1%) por sete dias.
- 2 – *R. areola* isolado IMA 244 cultivado em grãos de arroz por sete dias.
- 3 – *R. areola* isolado IMA 244 cultivado em grãos de arroz + dextrose por 14 dias.
- 4 – *R. areola* isolado IMA 244 cultivado em grãos de arroz por 14 dias.
- 5 – *R. areola* isolado IMA 244 cultivado em grãos de arroz + dextrose por 21 dias.
- 6 – *R. areola* isolado IMA 244 cultivado em grãos de arroz por 21 dias.
- 7 – *R. areola* isolado IMA 244 cultivado em grãos de arroz + dextrose por 28 dias.
- 8 – *R. areola* isolado IMA 244 cultivado em grãos de arroz por 28 dias.

Após o período de incubação, uma amostra de 10 g de grão de arroz colonizado foi adicionada a 90 mL de água destilada esterilizada com 0,1% de Tween 80. As amostras foram acondicionadas em agitador orbital por 60 minutos a 150 rpm. Após a agitação, as amostras foram colocadas em banho de ultra-som com frequência de 40 kHz, durante 5 minutos. Foi coletada uma alíquota de cada amostra e determinada a concentração de conídios, com o auxílio de uma câmara de Neubauer.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A maior esporulação de *R. areola* isolado IMA 244 foi obtida em meio de cultura de grão de arroz, seguido do grão de arroz com 1% de dextrose (Figura 1). Quanto ao período de cultivo, foi verificado que, aos 28 dias, o isolado IMA 244 apresentou a maior produção de conídios. Entretanto, Suassuna (2006) verificou que o isolado Ra062 de *R. areola* apresentou maior esporulação em arroz, quando cultivado durante sete dias. Esse meio de cultura, além da facilidade de obtenção, é utilizado para fermentação de agentes de biocontrole (LUCON et. al., 2009). Também deve-se ser considerado o baixo custo e a facilidade de obtenção dos ingredientes do meio de cultura.

## CONCLUSÃO

A produção de esporos foi abundante independentemente da adição de dextrose. Entretanto, o isolado IMA 244 apresentou a maior produção de conídios aos 28 dias de cultivo em grão de arroz sem dextrose.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CIA, E. Ocorrência e conhecimento das doenças de algodoeiro anual *Gossypium hirsutum* L. no Brasil. **Summa Phytopathologica**, v. 3, p. 167-193, 1977.

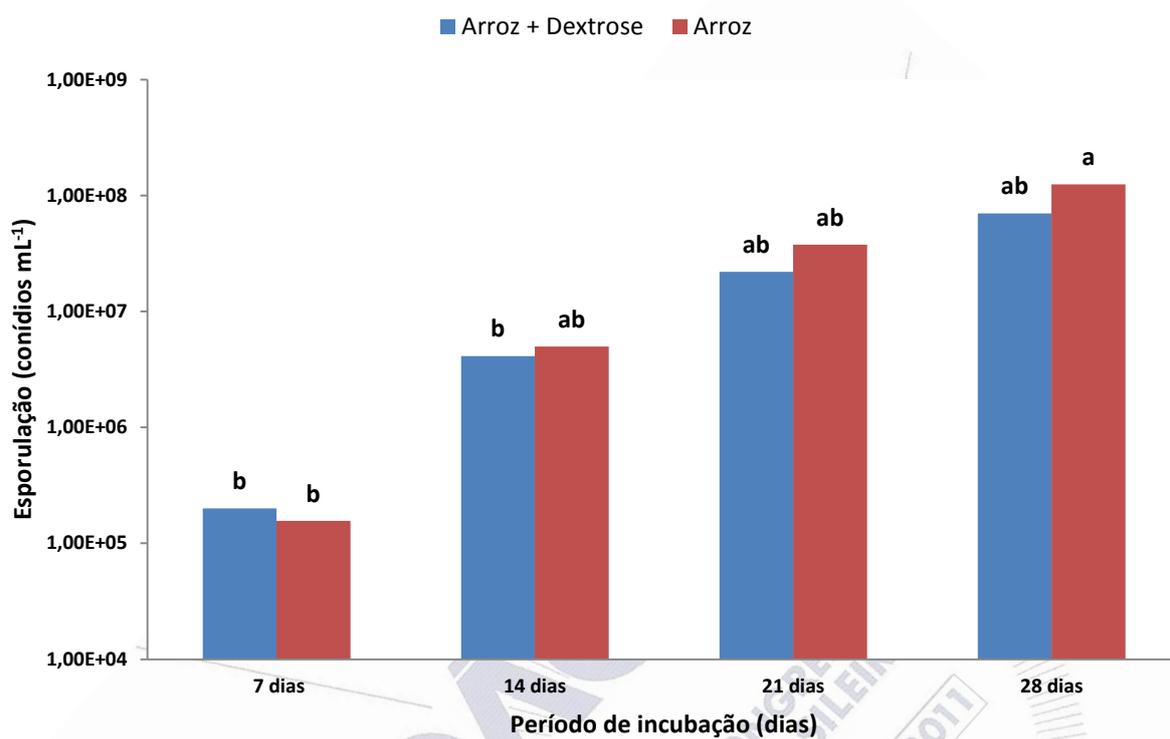
CIA, E.; SALGADO, C. L. Doenças do algodoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Org.). **Manual de Fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. São Paulo: Ceres, 1997. v. 2, p. 33-48.

LUCON, C. M. M.; KOIKE, C. M., ISHIKAWA, A. I.; PATRÍCIO, F. R. A.; HARAKAVA, R. Bioprospecção de isolados de *Trichoderma* spp. para o controle de *Rhizoctonia solani* na produção de mudas de pepino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 3, p. 225-232, 2009.

CHITARRA, L. G. **Identificação e controle das principais doenças do algodoeiro**. 2. ed. Embrapa Algodão: Campina Grande, 2008. 84 p.

SUASSUNA, N. D. **Mapeamento da resistência do algodoeiro à mancha de ramulária (*Ramularia areola*) e variabilidade do patógeno no Estado do Mato Grosso**. Relatório Final. Campina Grande: Embrapa Algodão/Fundação Centro – Oeste, 2006.

SUASSUNA, N. D.; COUTINHO, W. M.; FERREIRA, A. C. B. **Manejo da mancha de *Ramularia* em algodoeiro**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006. (Embrapa Algodão. Comunicado Técnico, 272).



**Figura 1.** Produção de conídios de *Ramularia areola* isolado IMA 244 aos 7, 14, 21 e 28 dias de incubação em grãos de arroz com e sem 1% de dextrose.