

DESENVOLVIMENTO DE *Colletotrichum* sp. ISOLADO DE TECA EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA

Jhonathan Todescatto Marques de Oliveira¹; Solange Maria Bonaldo²; Rogelho Alexandre Trento³

1. Graduando em Agronomia da Universidade Federal de Mato Grosso, *Campus Sinop/ICAA*
2. Professora Doutora da Universidade Federal de Mato Grosso, *Campus Sinop/ICAA* (sbonaldo@ufmt.br)
3. Professor Eng. Agrônomo da Universidade Federal de Mato Grosso, *Campus Sinop/ICAA*

Data de recebimento: 07/10/2011 - Data de aprovação: 14/11/2011

RESUMO

A teca (*Tectona grandis* L.f.) é uma espécie arbórea da família Verbenaceae, originária da Ásia, com grande ascensão na região Centro-Oeste do Brasil. Seu principal produto é a madeira, de alto valor, usada em móveis de luxo e embarcações navais. O trabalho verificou a influência de meios de cultura no crescimento micelial e esporulação de *Colletotrichum* sp., agente causal de antracnose em teca. O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Fitopatologia/Microbiologia da UFMT/*Campus Sinop*, utilizando-se os tratamentos: Aveia (Aveia-Agar), BDA (Batata-Dextrose-Agar) e suco de tomate V8 (V8-Agar). Após a solidificação dos meios, um disco (8 mm de diâmetro) de micélio do patógeno foi repicado para o centro das placas, que foram vedadas e mantidas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, no escuro/7 dias. A avaliação foi realizada através da medição do diâmetro da colônia, em dois sentidos diametralmente opostos e a concentração de esporos determinada por contagem em microscópio óptico utilizando câmara de Neubauer. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com sete repetições por tratamento, sendo cada repetição representada por uma placa de Petri. Observou-se que não houve diferença significativa do crescimento e esporulação do patógeno quando cultivado nos meios de cultura Aveia, BDA e V8.

PALAVRAS-CHAVE: Crescimento micelial, esporulação, antracnose, verbenaceae.

DEVELOPMENT OF *Colletotrichum* sp. ISOLATE OF TEAK IN DIFFERENT CULTURE MEDIUM

ABSTRACT

Teak (*Tectona grandis* L.f.) is an arboreal species of the family Verbenaceae, original from Asia, with a great ascension in the Midwest region of Brazil. Its main product is wood, high value, used in fine furniture and boats. This work verified the influence of culture media on mycelial growth and sporulation of *Colletotrichum* sp., causal agent of anthracnose in teak. The experiment was conducted at the Laboratory of Phytopathology / Microbiology of the UFMT / *Campus Sinop*, using the treatments:

Oat (Oat-Agar), PDA (Potato-Dextrose-Agar) and V8 tomato juice (V8-Agar). After solidification of the media, a disk (8 mm in diameter) of pathogen's mycelium was removed to the center of the plates, which were sealed and kept at $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, in the dark/7 days. The evaluation was performed by measuring the diameter colony's, in two diametrically opposite senses and the concentration of spores determined by counting under a optical microscope using a Neubauer chamber. The experiment was conducted in a completely randomized desing, with 7 replicates per treatment, each repetition being represented by a Petri dish. It was observed that there was no significant difference in the growth and sporulation of pathogen when grown in culture media Oats, PDA and V8.

KEYWORDS: Mycelial growth, sporulation, anthracnose, verbenaceae

INTRODUÇÃO

A teca (*Tectona grandis*) é uma espécie arbórea da família Verbenaceae, originária da Ásia, com grande ascensão na região Centro-Oeste do Brasil (FIGUEIREDO et al., 2005). Seu principal produto é a madeira, muito utilizada na produção de peças nobres e móveis finos, tem grande importância na construção naval, onde é praticamente insubstituível pelo fato de ser resistente ao sol, calor, frio, água de chuvas e do mar (RONDON NETO et al., 1998). Possui tronco retilíneo o que facilita os tratamentos culturais e também é uma planta rústica, com grande rendimento, rápido crescimento e certa tolerância ao calor, pragas e doenças.

O gênero *Colletotrichum* Corda compreende inúmeras espécies, incluindo saprófitas e fitopatogênicas, sendo estas responsáveis pela doença denominada antracnose, a qual causa danos consideráveis em grande número de culturas, tais como fruteiras, cereais, café e legumes (BAILEY & JEGER, 1992; SANTOS et al., 2005). RONDON & BONALDO (2009) relataram a ocorrência de *Colletotrichum* sp. causando antracnose em mudas de teca, em viveiro, no Mato Grosso. As folhas de teca com sintomas de antracnose apresentam necrose nas nervuras centrais e adjacentes, na superfície abaxial da folha (Figura 1).

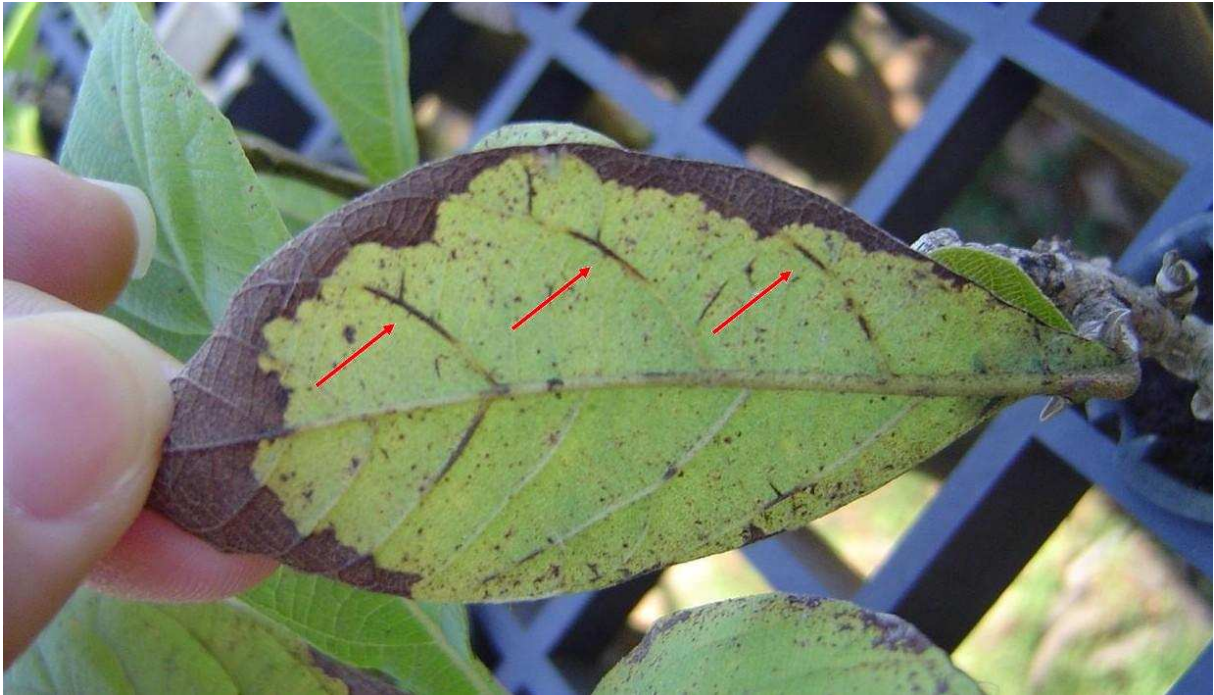


FIGURA 1. Folha de muda de teca, apresentando sintomas de antracnose. Setas indicam a necrose nas nervuras adjacentes, na superfície abaxial da folha.

Segundo SANTOS et al. (2005) o cultivo *in vitro* destes fungos é indispensável para utilização em estudos que exijam quantidades pré-determinadas de inóculo puro, sendo que para isto é necessário estabelecer condições de cultivo que permitam o bom desenvolvimento destes micro-organismos. Portanto, conhecer e estabelecer o meio de cultura em que ocorre melhor adaptação do fungo é fundamental, pois é a composição do meio o determinante da quantidade e qualidade do crescimento micelial e esporulação do fitopatógeno. Sendo que luminosidade e temperatura também são essenciais à esporulação.

Diante do exposto o presente trabalho objetivou avaliar a influência de diferentes meios de cultura no crescimento micelial e esporulação de *Colletotrichum* sp., agente causal de antracnose em teca.

METODOLOGIA

O presente experimento foi realizado no laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Campus Sinop, no período de 03 a 20 de novembro de 2010.

Os meios de cultura utilizados na análise de crescimento do patógeno foram: BDA (Batata-Dextrose-Ágar); Aveia (Aveia-Ágar) e V8 (Suco V8-Ágar).

O fungo foi isolado a partir de folhas de mudas de teca, apresentando sintomas de antracnose, provenientes de viveiro localizado em Sinop/MT. Pequenos fragmentos de tecido da região de transição da lesão das folhas foram retirados e desinfetados em solução de álcool 70% por 30 segundos e, em seguida, em solução de hipoclorito de sódio (0,5%) por 2 minutos. Com o auxílio de uma pinça flambada, os fragmentos foram removidos da solução desinfetante, e o excesso eliminado tocando-se os fragmentos ligeiramente em papel-filtro. Após isto, os fragmentos foram transferidos, em condições assépticas, para placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA). As placas foram incubadas por 48 horas a 25°C,

no escuro, até o crescimento do microrganismo. Após este período, a colônia obtida foi transferida para placas de Petri contendo BDA para a multiplicação do patógeno.

Da cultura pura do isolado, cultivada em meio Batata-Dextrose-Agar (BDA) por cinco dias a 28°C, foi repicado um disco de 8mm de diâmetro de micélio do patógeno para o centro das placas de Petri, contendo os tratamentos. As placas foram vedadas e mantidas a 25±2° C, no escuro por sete dias.

A avaliação do crescimento micelial foi realizada diariamente, durante sete dias consecutivos ou até que o micélio já tivesse tomado por completo a superfície do meio de cultura, através da medição do diâmetro das colônias, em dois sentidos diametralmente opostos.

A concentração de esporos foi determinada por contagem em microscópio óptico utilizando câmara de Neubauer, analisando-se suspensão obtida após liberação forçada dos conídios e filtragem em dupla camada de gaze. Para tanto, adicionou-se 10mL de água destilada estéril em cada placa, e procedeu-se a raspagem cuidadosa da superfície das colônias, para a liberação dos conídios. A suspensão obtida foi filtrada e analisada.

O delineamento experimental foi em DIC, com sete repetições, sendo cada repetição representada por uma placa de Petri. Aplicou-se Tukey ao nível de 5% de significância com intuito de verificar se houve ou não diferença significativa entre os tratamentos tanto para crescimento micelial quanto para esporulação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apesar da média de crescimento micelial para o tratamento BDA ter sido superior aos demais, não houve diferença significativa entre os tratamentos utilizados (Figura 2).

Contudo verificou-se o contrário para a esporulação *in vitro*, sendo que o tratamento V8 foi o que exibiu maior concentração de esporos em relação aos demais tratamentos, porém a partir da análise estatística pode-se perceber que não houve diferença significativa entre os meios de cultura BDA, AVEIA e V8, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância (Figura 3).

Nota-se, que em BDA houve grande crescimento micelial, mas, já para esporulação não ocorreu o mesmo, pois, segundo NOZAKI et al. (2004) nem sempre as condições que favorecem o crescimento micelial são as mesmas para esporulação.

Desta forma, MOORE-LANDECKER (1972) afirma que meios de cultura contendo alta concentração de carboidratos podem estimular o crescimento micelial, mas não a esporulação. Conforme DHINGRA & SINCLAIR (1995) meios com baixo teor de carboidratos, mas com extratos vegetais, normalmente estimulam a esporulação de vários fungos, contudo tal fato não foi observado para o fungo isolado de teca, cultivado em meio V8.

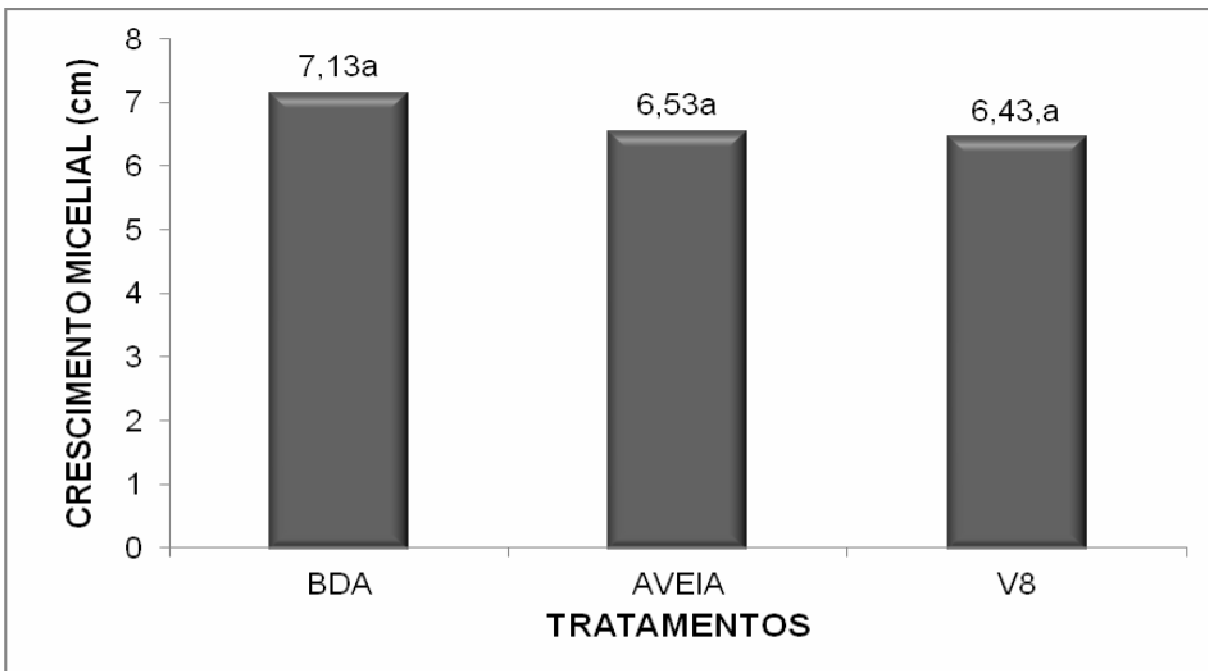


FIGURA 2. Crescimento micelial (cm) de *Colletotrichum* sp. submetido a diferentes meios de cultura. Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

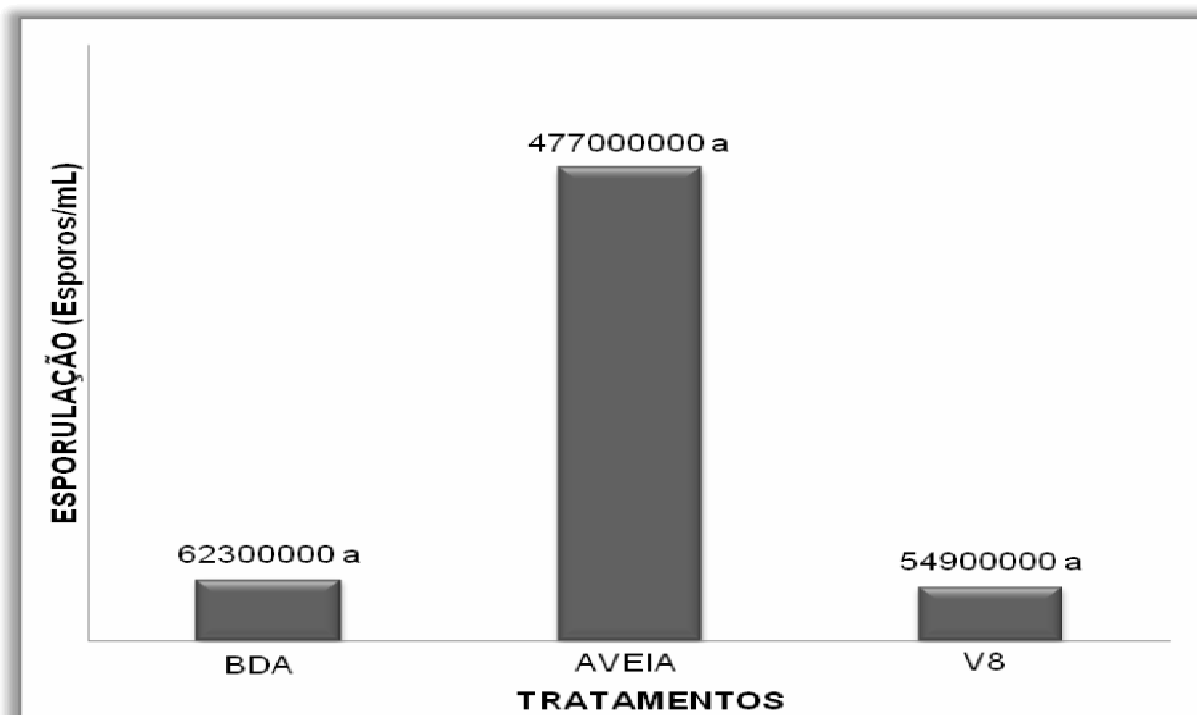


FIGURA 3. Esporulação de *Colletotrichum* sp. em função dos meios de cultura BDA, Aveia e V8. Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

CONCLUSÕES

Não houve diferença significativa do crescimento micelial e esporulação de *Colletotrichum* sp., isolado de teca, quando cultivado nos meios de cultura Aveia, BDA e V8.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAILEY, J.A.; JEGER, M.J. **Colletotrichum**: Biology, pathology and control. England: CAB Internacional Wallingford, 1992. 388p.

DHINGRA, O.D.; SINCLAIR, J.B. **Basic plant pathology methods**. Second edition. CRC Lewis Publishers: Boca Raton, 1995. 434p.

FIGUEIREDO, E.O.; OLIVEIRA, A.D. DE; SCOLFORO, J.R.S. Análise econômica de povoamentos não desbastados de *Tectona grandis* L.f., na microrregião do Baixo Rio Acre. **Cerne**, Lavras, v. 11, n. 4, p.342-353, 2005.

MOORE-LANDECKER, E. **Fundamentals of the Fungi**. Prentice-hall. London. p. 482, 1972.

NOZAKI, M. de H.; CAMARGO, M.; BARRETO, M. Caracterização de *Diaporthe citri* em diferentes meios de cultura, condições de temperatura e luminosidade. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, p.429-432, 2004.

RONDON NETO, R.M.; MACEDO, R.L.G.; TSUKAMOTO FILHO, A.A. Formação de povoamentos florestais com *Tectona grandis* L.f. (Teca). **Boletim Técnico**. Série Extensão, Lavras, v.7, n. 33, p.1-29, 1998.

RONDON, M.N.; BONALDO, S.M. **Ocorrência de antracnose em mudas de teca (*Tectona grandis*) no estado de Mato Grosso**. In: I SEMINÁRIO FLORESTAL DO SUDOESTE DA BAHIA - Recursos Florestais para o Semi-árido, 2009, Vitória da Conquista. Edições UESB, 2009. p.135-138.

SANTOS, J. dos; REY, M. dos S.; ROSSETO, E.A.; PIEROBOM, C.R. Crescimento e esporulação de três raças de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) sob quatro condições de luminosidade. **Revista Brasileira de Agrobiologia**, Pelotas, v. 11, n. 4, p.493-495, 2005.