

Caracterização Fisiomorfológica de Isolados de *Colletotrichum musae**

Erick F. Couto* & Maria Menezes^{1**}

Departamento de Agronomia, Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco, CEP 52171-900, Recife, PE, e-mail: erifa@ig.com.br.

(Aceito para publicação em 19/05/2004)

Autor para correspondência: Maria Menezes

COUTO, E.F. & MENEZES, M. Caracterização fisiomorfológica de isolados de *Colletotrichum musae*. Fitopatologia Brasileira 29:406-412. 2004.

RESUMO

Isolados de *Colletotrichum musae* obtidos de quatro cultivares de banana (*Musa* spp.) 'Comprida', 'Maçã', 'Pacovan' e 'Prata' foram estudados quanto ao aspecto morfológico dos conídios, apressórios, características culturais, diâmetro das colônias em meio BDA, germinação dos conídios em água destilada esterilizada e meio líquido BD, como também, quanto ao efeito da combinação de C/N no crescimento micelial, esporulação e peso da matéria seca, sob alternância luminosa, a aproximadamente, 25 °C. No estudo da relação C/N, as fontes de carbono foram dextrose, sacarose e sorbitol e as de nitrogênio asparagina, peptona e nitrato de potássio combinadas na proporção 10:1 (10 g de carbono para 1 g de nitrogênio). Os resultados mostraram conídios hialinos, com forma e tamanhos característicos da espécie, variando dentro dos limites estabelecidos para a espécie. A relação comprimento/largura foi menor para os isolados Iso-1, Iso-6 e Iso-8 oriundos de banana 'Comprida'. A

germinação de conídios ocorreu a partir de 8 h de incubação, havendo diferença significativa entre os isolados, quanto ao percentual de conídios germinados. Foram observados apressórios em todos os isolados, variando em quantidade. Houve diversidade nas características culturais e diâmetro das colônias dos isolados, em BDA. Com relação às combinações C/N, a análise estatística revelou diferença significativa entre os isolados, sob efeito da interação C/N, bem como dos fatores independentes, sobre o crescimento micelial, produção de esporos e peso seco do micélio. De um modo geral, as combinações de carbono com peptona favoreceram esses três processos fisiológicos, porém com diferença significativa entre os isolados de *C. musae* dentro de cada processo considerado.

Palavras-chave adicionais: *Musa* sp., fungo, nutrição, morfologia.

ABSTRACT

Physiological and morphological characterization of *Colletotrichum musae* isolates

Isolates of *Colletotrichum musae* from four banana (*Musa* spp.) cultivars 'Comprida', 'Maçã', 'Pacovan' and 'Prata' were studied in relation to morphological aspects of conidia, cultural characteristics, diameter of colony on PDA medium, and conidia germination in sterile water and potato dextrose agar (PDA). Also observed was the effect of the carbon/nitrogen ratio on growth, sporulation, and dry weight of mycelial mass, under alternating light at 25 °C. To study the effect of the C/N ratio, carbon sources (dextrose, sucrose and sorbitol) and nitrogen sources (asparagin, peptone and potassium nitrate) were combined in a proportion of 10:1 (10 g of C for 1 g of N). The results showed hyaline conidia with form and size characteristics of *C. musae*, which ranged within the limits established for the species. The

isolates from 'Comprida' banana presented the shortest length in relation to the others. Conidia germination occurred after 8 h of incubation, and isolates varied in relation to percentage of germinated conidia. All isolates formed appressoria but they varied in the amount produced. In general, the cultural characteristics of the isolates on PDA showed variation in color and diameter of colonies. In relation to effect of the C/N interactions, statistical analysis revealed significant variation among isolates, as well as independent factors, which effected mycelial growth, conidial production and the dry weight of the mycelial mass. All combinations of carbon involving peptone as the nitrogen source were favorable to the three physiological processes. Nevertheless, in each process observed, significant differences were found among the isolates of *C. musae*.

INTRODUÇÃO

Colletotrichum musae (Berk & Curt.) von Arx. (Teleomorfo: *Glomerella musarum* Petch) é um patógeno comum de frutos de banana (*Musa* spp.), causando antracnose, com ampla distribuição geográfica, onde a bananeira é cultivada (Wardlaw, 1972). Economicamente, o patógeno é

muito importante por causar prejuízos em pós-colheita e, também, perdas ao nível de campo (Jeffries *et al.*, 1990), sendo fator limitante da qualidade prejudicando a comercialização do fruto.

Em condições favoráveis, os conídios de *C. musae* germinam na superfície em frutos imaturos, dentro de 6 a 8 h, produzindo um tubo germinativo, na extremidade do qual se forma o apressório, considerado um órgão de adesão (Goos & Tschirsch, 1962). Esse órgão capacita o patógeno a sobreviver em condições adversas do ambiente, antes da

*Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor. Universidade Federal Rural de Pernambuco (2002).

**Bolsista do CNPq.

penetração no tecido do hospedeiro. Quando *C. musae* penetra em frutos imaturos, geralmente permanece quiescente até o início do processo de amadurecimento, ocorrendo a colonização e a expressão dos sintomas.

Leu & Chang (1988) verificaram que a tendência de *C. musae* em formar apressório a partir de tubos germinativos dos conídios depende do tipo de substrato no qual se encontra. Estes autores observaram maior germinação de conídios quando na superfície de frutos maduros. Por outro lado, Goos & Tschirsch (1962) relataram que, além do pH 6,0, considerado ótimo para a germinação de conídios de *C. musae*, também a luminosidade, associada ao período de exposição, exercem influência na taxa de germinação de conídios, cujo máximo foi obtido em 8 h, sendo a umidade relativa de 98-100% importante nesse processo fisiológico.

Com relação à temperatura ótima para crescimento micelial, esporulação e germinação de conídios de *C. musae*, Goos & Tschirsch (1962) citaram a faixa de 27-30 °C, enquanto Cox & Irwin (1988) de 26-28 °C. Entretanto, para outras espécies de *Colletotrichum*, a faixa ótima pode variar de 20-30 °C, como é o caso do crescimento de *C. gloeosporioides* (Penzig) Sacc. do maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims) (Neto *et al.*, 1994); de *C. coccodes* (Wallr.) Hughes (Dillard, 1988), sendo 16 °C a melhor temperatura para esporulação de *C. lagenarium* (Pass.) Ell. & Halst. (Thompson & Jenkins, 1985).

Pereira *et al.* (1998) citaram que o substrato pode influenciar a produção de propágulos de *C. lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Br. & Cav. Estes autores observaram variação na produção de conídios por ocasião do cultivo do fungo em diferentes meios de cultura. Resultados semelhantes foram reportados por Neto *et al.* (1994) e Pria *et al.* (1997).

A nutrição de C/N exerce efeito nos processos fisiológicos de fungos, principalmente aqueles relacionados ao crescimento, produção de conídios, germinação e peso seco (Cochrane, 1958) e permite também, estabelecer diferenças entre os isolados de *C. musae*, pela sua habilidade em usar determinada fonte de carbono e nitrogênio.

O presente trabalho teve como objetivo caracterizar os isolados de *C. musae* quanto à morfologia, aspectos culturais em BDA, e o efeito da relação C/N no crescimento micelial, produção de conídios e peso seco do micélio, visando conhecer a variabilidade da espécie com base em alguns processos fisiológicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos isolados de *Colletotrichum musae*

Os isolados de *C. musae* foram obtidos de frutos de bananeira das cultivares 'Comprida', 'Maçã', 'Pacovan' e 'Prata', provenientes de seis municípios do Estado de Pernambuco, através da transferência de esporos do fruto para o meio de batata-dextrose-ágar (BDA). Após a purificação das colônias, foram aleatoriamente selecionados recebendo a seguinte codificação: Iso-1, Iso-6 e Iso-8 (banana 'Comprida'); Iso-15 e Iso-17 (banana 'Pacovan'); Iso-19 (banana 'Maçã'); Iso-21, Iso-26 e Iso-29 (banana 'Prata').

Morfologia e características culturais de *Colletotrichum musae* em BDA

Os isolados foram avaliados quanto ao tamanho, germinação de conídios e formação de apressórios, empregando-se a técnica da microcultura (Sutton, 1980), a qual consistiu na deposição de fragmentos de micélio do fungo de um pequeno bloco de ágar (1 cm²) cobrindo-se em seguida com uma lamínula. As microculturas foram preparadas em triplicata sendo as lâminas mantidas apoiadas em suporte de vidro, sobre papel de filtro umedecido, contido numa placa de Petri. As culturas foram mantidas em condições naturais do laboratório (25 °C, aproximadamente), durante o período de 48 h, sob luz contínua. As lamínulas foram removidas, montadas em lâminas coradas com azul de Amann, e examinadas ao microscópio ótico para observações detalhadas das estruturas formadas. Para cada isolado realizou-se a medição do comprimento e largura de 50 conídios, estabelecendo-se uma média.

A germinação dos conídios foi realizada em lâminas, sob duas condições: água destilada esterilizada e meio líquido batata-dextrose-ágar (BDA), com três repetições. As leituras foram realizadas após 8 h de incubação em câmara úmida, sob o regime de claro contínuo e temperatura de 27 °C, determinando-se o percentual de conídios germinados, em relação ao total observado em um campo do microscópio. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com dezoito tratamentos representados pelos nove isolados e duas condições para germinação.

Observações quanto a produção de apressórios também foram feitas em relação a forma, coloração e quantidade formada, sendo documentados por fotomicrografia. Para os estudos das características culturais, os isolados de *C. musae* foram cultivados em BDA sob o regime de alternância luminosa, durante sete dias. Três repetições foram preparadas para cada isolado. Após o período de incubação, foi feita a avaliação, que consistiu na observação do aspecto topográfico e coloração das colônias.

Efeito da relação carbono/nitrogênio no crescimento micelial, esporulação e peso seco de *Colletotrichum musae*

No crescimento micelial - As fontes de carbono utilizadas no presente estudo (dextrose, sacarose e sorbitol) foram combinadas com três fontes de nitrogênio (asparagina, peptona e nitrato de potássio), na proporção de 10:1 (10 g de C para 1 g de N). O meio basal para adição das combinações carbono/nitrogênio foi composto de: 0,5 g de MgSO₄·7H₂O; 1,0 g de KH₂PO₄; 17 g de ágar, q.s.p. 1.000 ml de água destilada (Lilly & Barnett, 1951), sendo o pH ajustado para 5,5. Após a autoclavagem, os meios foram vertidos em placas de Petri, em volume aproximado de 20 ml/placa. Discos de micélio (6,0 mm de diâmetro), oriundos de colônia jovem (cinco dias de crescimento) de cada isolado de *C. musae*, foram transferidos para o centro das placas de Petri, e as culturas incubadas em condições de claro contínuo e temperatura de 27 °C, durante cinco dias. A avaliação do crescimento micelial

consistiu na determinação do diâmetro das colônias de cada isolado usando-se a média de duas leituras efetuadas em dois sentidos diametralmente opostos.

Na esporulação - A determinação da esporulação foi realizada logo após a avaliação do crescimento micelial, mediante o preparo de uma suspensão de conídios de cada placa de Petri, contendo as diferentes combinações carbono/nitrogênio. Para o preparo da suspensão, foram adicionados 20 ml de água destilada esterilizada em cada placa de Petri, para facilitar a remoção dos conídios do micélio, utilizou-se uma lâmina de vidro, cuidadosamente passada na superfície da colônia. O material removido foi filtrado em duas camadas de gaze, e a concentração de conídios determinada em câmara de Neubauer, obtendo-se uma média de duas leituras para cada repetição dos tratamentos.

No peso seco da massa micelial - Para a determinação do peso seco, os isolados foram cultivados individualmente durante cinco dias em frascos de Erlenmeyer, sem agitação das culturas, contendo 50 ml de cada combinação C/N, adicionados ao meio líquido basal. As condições de incubação foram as mesmas anteriormente citadas. Ao final do período de incubação, as culturas foram filtradas em gaze dupla, e a massa micelial coletada foi depositada em caixas de papel alumínio, com peso previamente determinado e isentas de umidade. As caixas foram colocadas em estufa a 50 °C, durante quatro dias e, ao final deste período, determinou-se por diferença, o peso seco da massa micelial de cada isolado, o qual foi expresso em miligrama. Para análise estatística os dados foram transformados para $(X + 1)^{1/2}$.

O delineamento utilizado no crescimento micelial, esporulação e peso seco da massa micelial foi o inteiramente casualizado em arranjo fatorial 9x9, sendo nove combinações carbono/nitrogênio e nove isolados, com quatro repetições. As médias dos dados obtidos foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Não foi comparado o efeito das fontes dentro de cada isolado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudos morfológicos de *Colletotrichum musae* em BDA

Os conídios, oriundos de cada isolado, quando observados ao microscópio ótico, apresentaram-se hialinos, unicelulares, retos e cilíndricos curtos ou elipsoidais. Com exceção do Iso-1, todos os isolados mostraram praticamente o mesmo comprimento, não diferindo significativamente ao nível de 5% entre si. Quanto à largura, houve variação (Tabela 1), com o tamanho dos conídios dentro dos limites estabelecidos para *C. musae* (Bailey & Jeger, 1992). Pela relação comprimento e largura (C/L), pode-se observar que o Iso-1, Iso-6 e Iso-8, oriundos de banana 'Comprida', produziram conídios menores em relação aos demais isolados de *C. musae*. A avaliação do tamanho dos conídios pela relação C/L parece ser uma boa medida, indicando que quanto maior o quociente dessa relação, os conídios são mais

longos e delgados e vice-versa (Veras, 1997).

A presença de alguns conídios com o comprimento superior ao padrão mais frequentemente encontrado para *C. musae*, sugere a ocorrência de segregação genética na proporção de 3:1 (três de tamanho normal e um fora do tipo padrão). Este fato já foi relatado por Menezes & Hanlin (1996) ao trabalharem com *C. gloeosporioides*. Essa segregação pode estar relacionada à condição nuclear dos conídios. Estudos realizados por Tebeest *et al.* (1989), em três espécies de *Colletotrichum*, mostraram a existência de conídios uninucleados (97%), binucleados (2,2%) e trinucleados (1%). Segundo esses autores, o número de núcleos variou com o meio de cultura (líquido ou sólido) e que, em geral, os conídios com mais de um núcleo eram maiores em relação àqueles típicos da espécie de *C. gloeosporioides*.

Com relação à germinação de conídios, este processo fisiológico foi superior em água destilada esterilizada do que em meio líquido BD. O Iso-8 mostrou maior percentual de conídios germinados (15,7%), sendo a água a melhor indutora do processo, não havendo diferenças significativas ao nível de 5% entre os isolados quando cultivados em BD. Segundo Wilson *et al.* (1990), a melhor temperatura para a germinação de conídios de *C. acutatum* Simmonds, está na faixa entre 25 e 30 °C, considerada a melhor para esse processo fisiológico, em frutos de morango. Por outro lado, Dillard (1988) observou maior germinação de conídios de *C. coccodes* entre 22 e 24 °C. No presente estudo, a temperatura de 27 °C favoreceu a germinação dos conídios de todos os isolados de *C. musae* estudados, após 8 h de incubação, havendo variação significativa quando a água foi o meio utilizado (Tabela 2).

Todos os isolados produziram apressórios de formato e quantidade variada, não sendo possível a utilização dessas estruturas para diferenciá-los. Com base na característica quantitativa de formação dos apressórios, os isolados foram assim agrupados: produção abundante: Iso-1, Iso-8 (banana 'Comprida'), Iso-19 (banana 'Maçã'), Iso-21, Iso-26 (banana 'Prata'); produção mediana: Iso-6 (banana 'Comprida') e Iso-29 (banana 'Prata'); e produção escassa: Iso-15 e Iso-17 (banana 'Pacovan'). Segundo Cox & Irwin (1988) a maioria dos apressórios de *C. musae* apresenta formato lobado, porém, essas estruturas não possuem valor taxonômico, embora Sutton (1980) faça distinção entre algumas espécies pelo tipo de apressório formado.

No presente trabalho, observou-se a produção de apressórios tanto com o formato lobado ou irregular, como não lobado ou obovóide, dotados de uma simples célula exibindo um poro de germinação hialino na parte central. Foi também observada a presença de um septo separando o apressório da hifa, existindo apressórios hialinos, porém a maioria era de coloração castanha escura.

O comportamento variável na produção quantitativa de apressórios parece estar diretamente relacionado ao genótipo de cada isolado de *C. musae*, e não ao seu hospedeiro de origem, sugerindo a existência de tipos biológicos dentro de *C. musae*. A pigmentação dos apressórios do gênero *Colletotrichum* está relacionada com a capacidade de

TABELA 1 - Teste de médias do comprimento, largura e relação comprimento/largura (C/L) dos conídios de nove isolados de *Colletotrichum musae*, em meio BDA, 48 h de incubação

Isolado	Comprimento ¹		Largura ¹		Relação C/L
	(μm)	Amplitude	(μm)	Amplitude	
Iso-1	12,77b	10,6 - 15,2	4,60bc	3,8 - 5,7	2,8d
Iso-6	14,47a	11,4 - 17,1	5,04ab	3,8 - 6,8	2,9cd
Iso-8	14,13a	11,4 - 15,5	5,43a	3,8 - 6,8	2,6d
Iso-15	14,85a	11,4 - 17,1	4,60bc	3,8 - 5,7	3,3bc
Iso-17	14,47a	11,4 - 17,1	4,19cd	3,8 - 6,8	3,5ab
Iso-19	14,88a	11,4 - 17,1	4,61bc	3,8 - 5,7	3,2bc
Iso-21	14,92a	13,3 - 17,1	4,03d	3,8 - 5,7	3,7a
Iso-26	14,75a	13,3 - 15,5	4,59bc	3,8 - 6,8	3,2bc
Iso-29	14,65a	11,4 - 18,2	4,60bc	3,8 - 5,7	3,2bc

CV = 9,15% (comprimento), 16,82% (largura), 18,00% (relação C/L).

¹Média de 50 conídios para cada isolado; Médias de três repetições por tratamento; médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

²C/L = comprimento/largura.

TABELA 2 - Teste de média dos percentuais de germinação de conídios de nove isolados de *Colletotrichum musae* em água e batata-dextrose, 8 h após a incubação

Isolado	Água ¹	BD ¹
Iso-1	10,3b	7,0a
Iso-6	10,7b	6,3a
Iso-8	15,7a	8,7a
Iso-15	10,0bc	6,7a
Iso-17	6,3cd	9,3a
Iso-19	8,0bcd	6,0a
Iso-21	7,7bcd	8,3a
Iso-26	5,7d	8,0a
Iso-29	8,3bcd	9,0a
Média	9,2A	7,7B

CV = 16,3%

¹Médias seguidas da mesma letra, minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

penetração no tecido do hospedeiro. Deising *et al.* (2000) citaram que isolados de *Colletotrichum* spp. tratados com inibidores da biossíntese de melanina são incapazes de penetrar no tecido hospedeiro. Do mesmo modo, Kubo *et al.* (1982) trabalhando com isolados de *C. lagenarium* observaram uma relação entre a falta de capacidade para penetrar numa membrana de nitrocelulose com a pigmentação dos apressórios. De acordo com Muirhead & Deverall (1981), a latência de *C. musae* em bananas é devido a fatores que controlam a dormência dos apressórios. Estes autores relatam que a produção de apressórios, e subsequente emissão de tubos infectivos são essenciais para a penetração e colonização do tecido hospedeiro, possuindo ainda importante papel na sobrevivência do fungo.

Características culturais de *Colletotrichum musae* em BDA

As colônias de quase todos os isolados variaram em coloração: branca (Iso-6, Iso-15 e Iso-29), cinza-claro (Iso-19 e Iso-21), cinza escuro (Iso-1), rosado (Iso-8, Iso-17 e Iso-

26), com reverso similar. Em alguns isolados foi visível a produção de massas de conídios na superfície da colônia, de cor laranja. As colônias variaram, também, quanto à formação de micélio aéreo, desde flocoso sem conídios aparentes, até micélio escasso, submerso e bem esporulado, sete dias após à incubação.

Em relação a avaliação do diâmetro das colônias em BDA, foram observadas diferenças significativas entre as médias dos isolados, permitindo classificá-los em dois grupos fisiológicos: médias >8,0 cm (Iso-1, Iso-8, Iso-15, Iso-17, Iso-19, Iso-21, Iso-26) e médias < 8,0 cm (Iso-6 e Iso-29). Ferraz (1977) classificou isolados de espécies do gênero *Colletotrichum* em grupos e subgrupos, em função da variação observada nas características culturais. Mesmo os isolados pertencentes à mesma espécie apresentaram entre si grande variabilidade no mesmo substrato, admitindo estar este fato relacionado com a presença de raças fisiológicas.

Considerando que uma espécie fúngica é representada por populações de biótipos, e tendo em vista que estes não tenham a mesma constituição genética, ou seja, encontrem-se em condição heterozigótica para um dado caráter, possivelmente ocorrerá a segregação de biótipos de comportamento variável, de acordo com o ambiente de cultivo da espécie.

Efeito da relação carbono/nitrogênio no crescimento micelial, esporulação e peso seco de *Colletotrichum musae*

Crescimento micelial - Em geral, as médias do crescimento micelial dos isolados nas combinações das fontes de carbono (dextrose, sacarose, sorbitol) tendo a peptona como fonte de nitrogênio, sobressaíram-se das demais, sendo significativamente superiores, seguindo-se em ordem decrescente as combinações de carbono com nitrato de potássio e carbono com asparagina (Tabela 3).

Dos isolados estudados, Iso-8 (banana 'Comprida') e Iso-19 (banana 'Maçã') apresentaram crescimento significativo em todas as interações C/N, não diferindo entre si, dentro de cada interação.

Observando o desempenho individual dos isolados, verifica-se que os isolados oriundos da cultivar 'Comprida' (Iso-1, Iso-6 e Iso-8), apresentaram comportamento distinto, diferindo significativamente (5% de probabilidade) entre si. Destes três, o Iso-6 foi o que mostrou menor diâmetro da colônia, em todas as interações de N com dextrose e sacarose. Porém, nas interações com sorbitol, houve tendência para melhor crescimento. Fato idêntico pode ser observado em relação aos isolados da cultivar 'Pacovan' (Iso-15 e Iso-17) e cultivar 'Prata' (Iso-21, Iso-26, Iso-29). Diferenças na habilidade em utilizar diferentes fontes de carbono e nitrogênio, entre isolados de uma mesma espécie, foram constatadas por vários pesquisadores, citando-se entre eles, Tandon & Chandra (1962), quando estudaram a utilização de fontes de carbono e nitrogênio por *C. gloeosporioides*.

Em relação ao efeito das interações de C/N nos isolados de *C. musae*, observamos que apenas o isolado 29 oriundo da cultivar 'Prata' demonstrou comportamento significativamente idêntico (5% de probabilidade) em todas as interações. (Tabela 4),

Esporulação - Os dados do efeito das interações C/N na

esporulação são mostrados na Figura 1, onde se observa a variabilidade dos isolados de *C. musae* em função das diferentes combinações de carbono e nitrogênio. Em geral, as interações das fontes de carbono e peptona como fonte de nitrogênio, favoreceram a produção de conídios da maioria dos isolados, com maior destaque para a interação sacarose/peptona, onde os isolados Iso-17 e Iso-19 apresentaram elevada produção de conídios em relação aos demais. Dos isolados estudados, Iso-1 mostrou a menor esporulação em todas as combinações C/N. Apesar de asparagina ser uma importante fonte de N orgânico (Cochrane, 1958), no presente trabalho a sua combinação, principalmente, com dextrose não mostrou resposta satisfatória no processo fisiológico de produção de conídios de *C. musae*.

Peso seco da massa micelial: As combinações dextrose/peptona e sacarose/peptona foram as que induziram maiores médias de peso seco da massa micelial, 5,3 mg e 5,4 mg, respectivamente, destacando-se significativamente das médias das demais fontes C/N. Na combinação sacarose/peptona, não ocorreram diferenças significativas entre os isolados, o mesmo acontecendo na combinação dextrose/peptona, com exceção

TABELA 3 - Médias de crescimento micelial de nove isolados de *Colletotrichum musae* nas interações carbono/nitrogênio (C/N), cinco dias após a incubação

Isolado	Dextrose ¹			Sacarose ¹			Sorbitol ¹		
	Asp	Pep	Nit	Asp	Pep	Nit	Asp	Pep	Nit
Iso-1	5,3cd	8,4ab	5,7bc	4,8c	6,9bc	6,2de	5,5d	6,9bcd	5,7bc
Iso-6	3,7ef	4,1d	5,4bc	4,7c	4,5d	5,1ef	6,4abcd	7,1bcd	5,5c
Iso-8	7,0ab	8,7a	7,8a	6,7b	8,2a	8,9a	6,3bcd	8,2ab	7,4a
Iso-15	3,4f	6,3c	5,0c	3,8c	6,2c	3,9f	3,9e	6,0d	5,7bc
Iso-17	7,3ab	8,6ab	8,3a	8,1a	8,5a	8,7ab	7,5a	9,0a	6,5abc
Iso-19	8,1 ^a	8,5ab	8,7a	7,6ab	8,6a	8,9a	6,8abc	7,9ab	7,0ab
Iso-21	4,0e	8,6ab	6,4b	4,7c	7,8ab	6,1de	5,6cd	7,9ab	6,7abc
Iso-26	4,7de	4,7d	5,1c	7,2ab	8,6a	7,6bc	6,0bcd	7,5bc	6,3abc
Iso-29	6,3bc	7,4bc	5,3bc	6,5b	6,6bc	6,5cd	7,2ab	6,4cd	6,4abc

CV = 8,79%

¹Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Asp = asparagina, Pep = peptona, Nit = nitrato de potássio

TABELA 4 - Efeito da interação carbono/nitrogênio (C/N) sobre o crescimento micelial de cada isolado de *Colletotrichum musae*, cinco dias após a incubação

Isolado	Dextrose ¹			Sacarose ¹			Sorbitol ¹		
	Asp	Pep	Nit	Asp	Pep	Nit	Asp	Pep	Nit
Iso-1	5,3cd	8,4a	5,75bcd	4,8d	6,9b	6,2bc	5,5cd	6,9b	5,7bcd
Iso-6	3,7e	4,1de	5,4bc	4,7cde	4,5cde	5,1cd	6,4ab	7,1a	5,5bc
Iso-8	7,0bcd	8,7a	7,8abc	6,7cd	8,2ab	8,9a	6,3d	8,2ab	7,4bcd
Iso-15	3,4d	6,3a	5,0bc	3,8cd	6,2ab	3,9cd	3,9cd	6,0ab	5,76ab
Iso-17	7,3cd	8,6abc	8,3abc	8,1abc	8,5abc	8,7ab	7,5bcd	9,0a	6,5d
Iso-19	8,1abc	8,5ab	8,7ab	7,6bcd	8,6ab	8,9a	6,8d	7,9abcd	7,0cd
Iso-21	4,0e	8,6a	6,4c	4,7de	7,83ab	6,1c	5,6cd	7,9ab	6,7bc
Iso-26	4,7f	4,7f	5,1ef	7,2bcd	8,6a	7,6ab	6,0de	7,5abc	6,3cde
Iso-29	6,3ab	7,43a	5,3b	6,5ab	6,6a	6,5ab	7,2a	6,4ab	6,4ab

CV = 8,79%

¹Médias seguidas da mesma letra minúscula na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Asp = asparagina, Pep = peptona, Nit = nitrato de potássio

apenas para o isolado 21 oriundo da cultivar ‘Prata’ (Tabela 5).

Analisando-se os dados do crescimento micelial, esporulação e peso seco do micélio, constatou-se uma correlação positiva entre o crescimento micelial e o peso seco do micélio, $r(\text{Pearson}) = 0,5121$, ou seja, os isolados que demonstraram maior habilidade de crescimento no meio sólido, tiveram também maior peso seco da massa micelial no meio líquido.

Segundo Tandon & Chandra (1962), um bom crescimento micelial está associado a uma boa esporulação. No presente estudo foi verificado que alguns isolados apresentaram alta produção de conídios, aliada a elevado crescimento em meio sólido e líquido (Iso-8, Iso-17 e Iso-19), confirmando os dados dos autores mencionados. No

entanto, o Iso-15 apresentou pequeno crescimento em meio sólido e líquido, 4,9 cm e 3,1 mg, respectivamente, porém, abundante produção de conídios. Cochrane (1958) relata que nem sempre há relação direta entre crescimento e produção de esporos e vice-versa. Às vezes, um meio ótimo para o crescimento rápido resulta na exaustão dos nutrientes e os metabólitos secundários liberados pelo fungo nesse meio, inibindo a produção de esporos (Griffin, 1994). Por outro lado, o crescimento micelial reduzido pode estimular a esporulação naquele substrato. Sabe-se que as características fenotípicas refletem o genótipo do organismo e no caso de *C. musae* foi detectada certa variabilidade entre os isolados, principalmente em relação ao Iso-1. É possível que este isolado seja uma variedade de *C. musae* ou mesmo uma raça, cujas propriedades merecem ser investigadas.

TABELA 5 - Médias do peso seco da massa micelial de nove isolados de *Colletotrichum musae* nas interações carbono/nitrogênio (C/N), cinco dias após a incubação

Isolado	Dextrose ¹			Sacarose ¹			Sorbitol ¹		
	Asp	Pep	Nit	Asp	Pep	Nit	Asp	Pep	Nit
Iso-1	1,8d	4,8ab	1,6cd	3,7c	5,1a	2,7e	1,8f	3,6d	2,6b
Iso-6	3,8bc	5,6a	2,4bc	4,5abc	5,3a	4,0cd	3,5abcde	4,4bcd	2,2bcd
Iso-8	5,4a	5,7a	2,9ab	5,1ab	5,7a	4,7abc	4,1ab	5,6a	2,4bc
Iso-15	3,0c	5,3ab	1,8cd	3,9bc	5,0a	3,7de	3,2bcde	4,0d	1,3d
Iso-17	5,3a	5,3ab	2,8ab	5,1ab	5,1a	5,1a	2,7def	5,0abc	1,5cd
Iso-19	4,5ab	5,6a	3,5a	5,3ab	5,8a	5,0ab	2,9cde	4,1cd	2,1bcd
Iso-21	1,7d	4,5b	1,1d	4,7ab	5,7a	2,8c	3,6abc	5,4a	3,0ab
Iso-26	4,7ab	5,5a	1,7cd	5,4a	5,7a	4,1bcd	3,7abc	5,2ab	3,6a
Iso-29	3,9b	5,1ab	2,2bc	4,5abc	5,4a	4,3abcd	4,4a	5,4a	3,6a

CV = 9,0%

¹Médias seguidas da mesma letra (minúscula na vertical) não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Asp = asparagina, Pep = peptona, Nit = nitrato de potássio

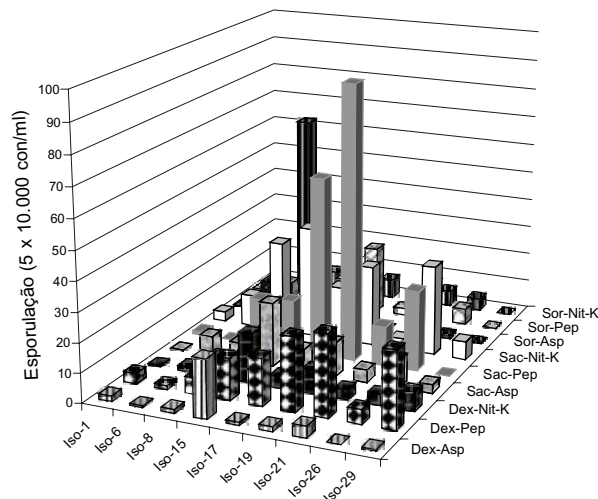


FIG. 1 - Produção de conídios de nove isolados de *Colletotrichum musae* nas interações de C/N, após cinco dias de incubação.

Dex-Asp = dextrose x asparagina, Dex-Pep = dextrose x peptona, Dex-Nit -K = dextrose x nitrato de potássio, Sac-Asp = sacarose x asparagina, Sac-Pep = sacarose x peptona, Sac-nit-K = sacarose x nitrato de potássio, Sor-Asp = Sorbitol x asparagina, Sor-Pep = Sorbitol x peptona, Sor-Nit-K = Sorbitol x nitrato de potássio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAILEY, J.A. & JEGER, M.J. *Colletotrichum*: Biology, pathology and control. Wallingford. CAB International. 1992.
- COCHRANE, V.W. Physiology of fungi. New York. John Wiley & Sons Inc. 1958.
- COX, M.L. & IRWIN, J.A.G. Conidium and apressorium variation in Australian isolates of the *Colletotrichum gloeosporioides* group and closely related species. Australian Systematic Botany 1:139-144. 1988.
- DEISING, H.B., WERNER, S. & WERNITZ, M. The role of fungal apressoria in plant infection. Microbes and infection 2:1631-1641. 2000.
- DILLARD, H.R. Influence of temperature, pH, osmotic potential, and fungicide sensitivity on germination of conidia and growth from Sclerotia of *Colletotrichum coccodes* in vitro. Phytopathology 78:1357-1361. 1988.
- FERRAZ, J.F.P. Morfologia, comportamento cultural e patogenicidade de espécies de *Colletotrichum* e *Gloeosporium*. Agronomia Lusitana 38:163-179. 1977.
- GOOS, R.D. & TSCHIRSCH, M. Effect of environmental factors on spore germination, spore survival, and growth of *Gloeosporium*

- musarum*. Mycologia 54:353-367. 1962.
- GRIFFIN, D.H. Fungal Physiology. 2ed. New York: Willey-Liss, 1994.
- JEFFRIES, P., DODD, J.C., JEGER, M.J. & PLUMBIEY, R.A. The biology and control of *Colletotrichum* species on tropical fruits crops. Plant Pathology 39:343-366. 1990.
- KUBO, Y., SUZUKI, K., FURUSAWA, I., ISHIDA, N. & YAMAMOTO, M. Relation of appressorium pigmentation and penetration on nitrocellulose membranes by *Colletotrichum lagenarium*. Phytopathology 72:498-501. 1982.
- LEU, LII-SIN & CHANG, CHWEN-WEN. Conidium germination and appressorium formation of *Colletotrichum musae*. Transactions Mycological Society of Japan 29:1-12. 1988.
- LILLY, V.G. & BARNETT, H.C. Physiology of fungi. New York. McGraw-Hill, 1951.
- MUIRHEAD, I.F. & DEVERALL, B.J. Role of appressoria in latent infection of banana fruits by *Colletotrichum musae*. Physiological Plant Pathology 19:77-84.1981.
- MENEZES, M. & HANLIN, R.T. Morphological variability of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates from avocado trees from northeast Brazil. Revista de Microbiologia 27:228-236. 1996.
- NETO, E.F., NAKAMURA, K. & OLIVEIRA, J.C. Influência de alguns fatores na germinação de conídios, no crescimento micelial e na esporulação de alguns isolados de *Colletotrichum gloeosporioides*, obtidos de *Passiflora*. Summa Phytopathologica 20:96-100. 1994.
- PEREIRA, J.C.R., BATISTA, U.G., GUIMARÃES, F.B. & MISUBUTI, E.S.G. Efeito de diferentes meios de cultura sobre a esporulação e o potencial de inóculo de *Colletotrichum lindemuthianum*. Summa Phytopathologica 24:186-189. 1998.
- PRIA, M.D., FILHO, A.B. & AMORIM, L. Avaliação de diferentes meios de cultura na esporulação de *Colletotrichum lindemuthianum*, *Phaeoisariopsis griseola* e *Alternaria* sp. Summa Phytopathologica 23:181-183. 1997.
- SUTTON, B.C. The Coelomycetes. Commonwealth Mycological Institute, London, 1980, 696p.
- TANDON, R.N. & CHANDRA, S. The nutrition of *Colletotrichum gloeosporioides* PENZ. Mycopathology et. Mycology Applied 18:213-224. 1962.
- TEBEEST, D.O., SHILLING, C.W., HOPKINS, R.L. & WEIDEMANN, G.J. The number of nuclei in spores of three species of *Colletotrichum*. Mycologia 81:147-149. 1989.
- THOMPSON, D.C. & JENKINS, S.F. Effects of temperature, moisture, and cucumber cultivar resistance on lesion size increase and conidial production by *Colletotrichum lagenarium*. Phytopathology 75:828-832. 1985.
- VERAS, S.M., GASPAROTTO, L. & MENEZES, M. Avaliação isoenzimática de *Colletotrichum guaranicola*. Arquivos de Biologia e Tecnologia do Paraná 40:548-553. 1997.
- WARDLAW, C.W. Diseases of the banana and of the Manila hemp plant. MacMillan and company. 1972.
- WILSON, L.L., MADDEN, L.V. & ELLIS, M.A. Influence of temperature and wetness duration on infection of immature and mature strawberry fruit by *Colletotrichum acutatum*. Phytopathology 80:111-116. 1990.