

# Avaliação de diferentes meios de cultura na esporulação de *Scytalidium lignicola*

Juliana Paiva Carnaúba<sup>1</sup>, Márcio Félix Sobral<sup>2</sup>, Edna Peixoto da Rocha Amorim<sup>3</sup>, Julio Cesar da Silva<sup>4</sup>, Vanderley Borges dos Santos<sup>5</sup>, Kátia Cilene da Silva Félix<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Estudante de Doutorado em Fitopatologia, UFRPE/ Bolsista CAPES. <sup>2</sup>Estudante de Mestrado em Fitopatologia, UFRPE/ Bolsista CAPES.

<sup>3</sup>Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade, CEP 57100-000, Rio Largo, AL.

<sup>4</sup>Estudante de Mestrado em Agronomia, CECA-UFAL/ Bolsista Fapeal. <sup>5</sup>Estudante de Mestrado em Agronomia, CECA-UFAL/ Bolsista CAPES. <sup>6</sup>Estudante de Mestrado em Fitopatologia, UFRPE. E-mail: jcarnauba@hotmail.com

Autor para correspondência: Juliana Paiva Carnaúba

Data de chegada: 19/09/2005. Aceito para publicação em: 24/10/2006.

1254

## RESUMO

Carnaúba, J.P.; Sobral, M.F.; Amorim, E.P. da R.; Silva, J.C.; Santos, V.B.; Félix, K.C. da S.; Avaliação de diferentes meios de cultura na esporulação de *Scytalidium lignicola*. *Summa Phytopathologica*, v.33, n.2, p.199-200, 2007.

*Scytalidium lignicola* é um fungo que causa podridão negra em raízes e caules de mandioca. A esporulação de *S. lignicola* foi avaliada em 8 meios de cultura - BDA, SA, AvA, BSA, LCA, suco V-8, Mandioca-agar (MAND-A) e MA - sob regime de alternância de luz (12h claro/12h escuro) e 3 temperaturas (25, 28 e 30°C). Discos de 5mm de diâmetro retirados da borda da colônia cultivada em meio BDA, após 5 dias de incubação a 28°C, foram transferidos para o centro de placas de Petri contendo 15mL de cada meio com inibidores seletivos. Após 5 dias de incubação, os esporos

foram quantificados em contagens realizadas em câmara de Neubauer. O experimento seguiu delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 8 x 3 (Meios x Temperaturas). Observou-se que houve diferença significativa apenas para os meios de cultura, não havendo diferença entre as temperaturas testadas. A esporulação de *S. lignicola* foi superior nos meios suco V-8, BDA, MAND-A, AvA, BSA e SA, não diferindo entre si estatisticamente. Enquanto nos meios MA e LCA ocorreram as menores esporulações, também não havendo diferença entre si.

Palavras-chave adicionais: Podridão-negra, mandioca, fungo.

## ABSTRACT

Carnaúba, J.P.; Sobral, M.F.; Amorim, E.P. da R.; Silva, J.C.; Santos, V.B.; Félix, K.C. da S. Evaluation of different culture media on the sporulation of *Scytalidium lignicola*. *Summa Phytopathologica*, v.33, n.2, p.199-200, 2007.

*Scytalidium lignicola* causes black root rot and stem rot on cassava plants. The sporulation of *S. lignicola* was evaluated in 8 different culture media as following: potato-dextrose-agar (PDA), soybean-agar, oat-extract-agar, potato-sucrose-agar (PSA), coconutextract-agar, V-8 juice-agar, cassava-agar and corn meal-agar, under light alternation (12h light/12h dark) at three different temperatures 25, 28 and 30°C. Discs measuring 5mm were removed from the border of a 5-days old fungus culture in PDA. These discs were transferred to the center of Petri dishes containing 15mL of each media with selective inhibitors.

After 5 days of incubation, the spores were counted in a Neubauer chamber. The experiment was installed using a randomized block design in a factorial 8 media x 3 temperatures scheme. It was observed that the only significant factor was the media culture, V-8 juice-agar, PDA, cassava-agar, oat-extract-agar, PSA, and soybean-agar media gave the best fungus sporulation without significant difference among them. There was no significant difference between the corn meal-agar and coconutextract-agar media for fungus sporulation. On these media, fungus sporulation was the lowest compared to the other media.

Additional keywords: black roor rot, stem rot cassava, fungus.

O fungo *Scytalidium lignicola* Pesante causa podridão negra em raízes e caules de mandioca. A presença deste patógeno foi verificada pela primeira vez no estado de Pernambuco (4), seguido do estado do Pará (9) e no estado de Alagoas (7)

A composição do meio de cultura determina a quantidade e qualidade do crescimento micelial e esporulação dos fitopatógenos. Além dos meios de cultura, a temperatura e luminosidade são fatores essenciais para estimular a esporulação dos patógenos (2). Quando um fungo cresce bem em um substrato e não em outro, acredita-se que metabólitos específicos estejam envolvidos (6).

A esporulação é um processo de diferenciação mais específico, no qual, estão envolvidas as células reprodutivas afetadas por modificações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas (3).

Neste trabalho, foi avaliada a esporulação de *S. lignicola* em diferentes meios de cultura utilizando 3 temperaturas, sob regime de alternância luminosa.

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fitopatologia do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Alagoas, no ano de 2005. O isolado de *S. lignicola* foi obtido de raízes de mandioca com sintomas característicos de podridão negra, provenientes do município de Boca da Mata - AL.

Foram utilizados 8 meios de cultura conforme apresentado na Tabela 1, preparados de acordo com sua descrição na literatura. Todos os meios foram autoclavados a 120°C por 20 minutos. Cada placa de Petri recebeu 15mL de meio contendo inibidor seletivo.

O meio mandioca-agar foi preparado, utilizando 200g de mandioca,

**Tabela 1.** Meios de cultura utilizados na esporulação de *Scytalidium lignicola* e preparados conforme descrição na literatura.

Meio de Cultura	Referência
Batata-dextrose-agar (BDA)	Riker & Riker, 1936 (14) In: Menezes & Silva-Hanlin, 1997.
Soja-agar (SA)	Smoot et al., 1958 (16) In: Menezes & Silva-Hanlin, 1997
Aveia-agar (AvA)	Gooding & Lucas, 1959 (5) In: Menezes & Silva-Hanlin, 1997
Batata-sacarose-agar (BSA)	Booth, 1977 In: Menezes & Silva-Hanlin, 1997
Leite de coco-agar (LCA)	Menezes & Silva-Hanlin, 1997 (10)
Suco V-8 agar (V-8)	Romero & Gallegly, 1963 (15) In: Menezes & Silva-Hanlin, 1997
Mandioca-agar (MAND-A)	Carnaúba, 2005
Milho-agar (MA)	Plaats-Niterink, 1981 (13) In: Menezes & Silva-Hanlin, 1997

**Tabela 2** – Médias de esporulação de *Scytalidium lignicola* em diferentes meios de cultura, em condições de alternância luminosa e temperatura de 28° C.

Meio de Cultura	Esporulação (Conídios/mL)
Suco V-8	6.143797 a*
MAND-A	6.008906 a
BDA	5.949067 a
AvA	5.699111 a
BSA	5.489891 a
SA	5.089113 ab
LCA	4.136034 bc
MA	3.747301 c

\* \* Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

20g de dextrose, 17g de agar e 1000mL de água destilada.

Da cultura pura do isolado, cultivada em meio batata-dextrose-agar (BDA) por 5 dias a 28°C, foram retirados discos de 5 mm de diâmetro e depositados no centro de cada placa de Petri. As placas foram incubadas em estufa B.O.D. sob 3 temperaturas (25°, 28° e 30°C) e alternância luminosa (12h).

Para a quantificação dos esporos, foram adicionados 10mL de água destilada autoclavada, contendo Tween 80 a 0,05%, por placa de Petri, utilizando-se escova de dente para facilitar a liberação dos conídios. A suspensão obtida foi filtrada em dupla camada de gaze e a concentração dos esporos determinada através da contagem em microscópio ótico utilizando câmara de Neubauer, estabelecendo-se uma média de 4 leituras.

O experimento seguiu delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 8 x 3 com 4 repetições, onde cada repetição foi representada por uma placa de Petri. Foi utilizado o teste de Tukey com transformação de logaritmo base 10 de Y - log<sub>10</sub> (Y).

Segundo resultados da análise de variância, houve diferença significativa, de acordo com o teste F a 1%, apenas para o meio de cultura, não havendo diferença entre as 3 temperaturas testadas.

Conforme a Tabela 2, através do teste de Tukey a 5%, conclui-se que a esporulação de *S. lignicola* foi significativamente superior nos meios: suco V-8, MAND-A, BDA, AvA, BSA e SA, entretanto, não diferiram entre si estatisticamente. Já nos meios MA e LCA ocorreram as menores esporulações, também não havendo diferenças estatísticas entre si.

Segundo Nozaki et al. (8), nem sempre as condições que favorecem o crescimento do fungo são as mesmas para esporulação. Sabe-se ainda que, alguns meios de cultura são mais favoráveis para a esporulação de fungos que outros. A necessidade de luz para o crescimento e esporulação de fungos é muito variável, até mesmo

entre isolados da mesma espécie (5). Alguns esporulam melhor na presença de luz contínua ou em escuro contínuo (1).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cooperman, C. J.; Jenkins, S. F. Conditions influencing growth sporulation of *Cercospora asparagi* blight development in Asparagus. **Phytopathology**, St. Paul, v. 76, n. 6, p. 617-622, 1986.
- Dhingra, O.D.; Sinclair, J.B. **Basic plant pathology methods**. Lewis: Publishers Boca Raton, Flórida, 1995.
- Griffin, D.H. Fungal Physiology, New York: Jonh Wiley, 1993, v.2. 458p. In: Castro, N.R. & Coelho, R.S.B. Caracterização fisiológica de isolados de *Cercospora cruenta* em diferentes meios de cultura. **Summa Phytopathologica**, v.26, p. 466-471, 2000.
- Laranjeira, D.; Santos, E.O. dos; Mariano, R. de L.R.; Barros, S.T. Ocorrência da podridão negra da maniva e raiz da mandioca (*Manihot esculenta*) causada por *Scytalidium lignicola* no estado de Pernambuco, Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 19, n.3, p. 466-469, 1994.
- Masangkay, R. F.; Paulitz, T. C.; Hallet, S. G.; Watson, A. K. Characterization of sporulation of *Alternaria alternata* f. sp. *sphenocleae*. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 10, n. 4, p. 385-397, 2000.
- Menezes, M.; Silva-Hanlin, D.M.W. **Guia prático para fungos fitopatogênicos**. Recife: UFRPE, 1997. 106p.
- Muniz, M. de F.S.; Santiago, A.D.; Fukuda, C.; Menezes, M. *Scytalidium lignicola*: patógeno da mandioca no estado de Alagoas. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 25, p. 156-158, 1999.
- Nozaki, M. de H.; Camargo, M. e Barreto, M. Caracterização de *Diaporthe citri* em diferentes meios de cultura, condições de temperatura e luminosidade. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29 n.4, p. 429-432, 2004.
- Trindade, D.R.; Poltronieri, L.S.; Albuquerque, F.C.; Poltronieri, M.C. Ocorrência do fungo *Scytalidium lignicola* agente causal da podridão negra do caule e da raiz de mandioca no estado do Pará. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.22, p. 316, 1997.