

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES MEIOS DE CULTURA NA ESPORULAÇÃO DE *Scytalidium lignicola*, AGENTE CAUSAL DA PODRIDÃO NEGRA DA MANDIOCA

Juliana Paiva Carnaúba¹, Márcio Félix Sobral², Edna Peixoto da Rocha Amorim³, Júlio César da Silva⁴, Vanderley Borges⁵, Kátia Cilene da Silva Félix⁶

¹Estudante de Mestrado em Agronomia, CECA-UFAL/Bolsista CAPES; ²Estudante de Agronomia, CECA-UFAL/Bolsista PIBIC/Cnpq; ³Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade, 57100-000 Rio Largo, AL; ⁴Estudante de Mestrado em Agronomia, CECA-UFAL/Bolsista Fapeal; ⁵Estudante de Mestrado em Agronomia, CECA-UFAL/Bolsista CAPES; ⁶Estudante de Biologia, UFAL. *Embrapa Tabuleiros Costeiros*, AL.
E-mail: jcarnauba@hotmail.com.

INTRODUÇÃO

O fungo *Scytalidium lignicola* causa podridão negra em raízes e caules de mandioca. A presença deste patógeno foi verificada pela primeira vez no Estado de Pernambuco (Laranjeira et al., 1994), seguido do Estado do Pará (Trindade et al., 1997) e no Estado de Alagoas (Muniz et al., 1999).

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 (Dhingra & Sinclair, 1995). Quando um fungo cresce bem em um substrato e não em outro, acredita-se que metabólitos específicos estejam envolvidos (Menezes & Silva-Hanlin, 1997).

A esporulação é um processo de diferenciação mais específico, no qual, estão envolvidas as células reprodutivas afetadas por modificações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas (Griffin, 1993).

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

MATERIAL E MÉTODOS

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 *Scytalidium lignicola* foi obtido de raízes de mandioca com sintomas característicos de podridão negra, provenientes do município de Boca da Mata, AL.

Foram utilizados oito meios de cultura conforme a 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 15 mL de cada um dos meios contendo inibidores seletivos.

Tabela 1. Meios de cultura preparados conforme descrição na literatura.

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

O meio Mandioca-agar foi testado, utilizando 200 g de mandioca, 20 g de dextrose, 17 g de agar e 1.000 mL 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 três temperaturas (25°C, 28°C e 30°C) com alternância luminosa (12h claro/12h escuro). No quinto dia de incubação, as placas já estavam quase que totalmente tomadas pelo crescimento micelial, impossibilitando a avaliação do mesmo.

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 por meio de quatro leituras.

O experimento seguiu delineamento inteiramente casualizado com fatorial 8 x 3 com quatro repetições, onde cada repetição foi representada por uma placa de Petri. Foi utilizado o teste de Tukey com transformação de logaritmo base 10 de $Y - \log_{10}(Y)$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de variância são mostrados na Tabela 2. Observa-se que houve diferença significativa, de acordo com o teste F a 1%, apenas para o meio de cultura, não havendo diferença entre as três temperaturas testadas.

Conforme a Tabela 3, 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 os meios MA e LCA obtiveram as menores esporulações, também não havendo diferenças estatísticas entre si.

Tabela 2. Análise de variância.

F.V.	G.L.	SQ	QM	S
Meio	7	67.668	9.666	12.466**
Temperatura	2	2.978	1.489	1.920ns
Meio x Temperatura	14	8.463	0.604	0.780ns
Erro	72	55.832	0.775	
C.V. (%)	16.67			

* Teste F a 5 % de probabilidade; ns - não significativo.

Tabela 3. Médias de esporulação de *Scytalidium lignicola* em diferentes meios de cultura.

Meio de cultura	Esporulação Conídios x ⁴ /mL
MA	3.747301 a*
LCA	4.136034 ab
AS	5.089113 bc
BSA	5.489891 c
AvA	5.699111 c
BDA	5.949067 c
MAND-A	6.008906 c
Suco V-8	6.143797

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

Segundo Nozaki et al. (2004), 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 (Masangkay, 2000; Mello et al., 2000). Alguns esporulam melhor na presença de luz contínua ou em escuro contínuo (Calpouzoz & Stallknecht, 1967; Cooperman & Jenkins, 1986).

CONCLUSÃO

Conclui-se que podemos utilizar um dos meios de cultura citados no presente artigo, com exceção do MA e LCA, para a execução de trabalhos relacionados com o controle da referida doença, causada pelo fungo *Scytalidium lignicola*, na qual, causa grandes prejuízos na cultura de Mandioca.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Booth, C. *Fusarium - Laboratory Guide to the identification of the major species*. Kew, Surrey, England, Commonwealth Mycological Institute. 1977;
2. Calpouzoz, L.; Stallknecht, G. F. Effects of light on sporulation of *Cercospora beticola*. *Phytopathology*, Saint Paul, v. 57, n. 7, p. 679-681, 1967;

3. 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;
4. Dhingra, O.D. & Sinclair, J.B. **Basic Plant Pathology Methods**. Lewis Publishers, Boca Raton, Flórida, 1995;
5. Gooding, G.V. & Lucas, G.B. Factors influencing sporangial formation and zoospore activity in *Phytophthora parasitica* v. *nicotianae*. **Phytopathology** 49: 277-281. 1959;
6. 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;
7. 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. **Fitopatol. bras.**, Brasília, v. 19, n.3, p. 466-469, 1994;
8. 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;
9. Mello, S. C. M.; Ávila, Z.R.; Fontes, E.M.G.; Ribeiro, Z.M.A.; Pais, J.S.O. Processo de produção do fungo *Alternaria cassiae* para biocontrole de fedegoso (*Senna obtusifolia*). Brasília: **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 2000. 35p. (Boletim de Pesquisa, 18);
10. Menezes, M. & Silva-Hanlin, D.M.W. **Guia prático para fungos fitopatogênicos**. Recife: UFRPE, 1997. 106p;
11. Muniz, M. de F.S.; Santiago, A.D.; Fukuda, C.; Menezes, M. *Scytalidium lignicola*: patógeno da mandioca no estado de Alagoas. **Summa Phytopathologica**, v. 25, p. 156-158, 1999;
12. Nozaki, M. de H.; Camargo, M. e Barreto, M. Caracterização de *Diaporthe citri* em diferentes meios de cultura, condições de temperatura e luminosidade. **Fitopatol. bras.** v.29 n.4 Brasília July/Aug. 2004.
13. Plaats-Niterink, A.J. Van Der. Monograph of the genus Pythium. **Studies in Mycology** 21: 1-242. 1981;
14. Riker, A.J. & Riker, R.S. **Introduction to Research on plant disease**. St. Louis, Mo., Jonh S. Swift Co. 1936;
15. Romero, S. & Gallegly, M.E. Oogonium germination in *Phytophthora infestans*. **Phytopathology** 53: 899-903. 1963.
16. Smoot, J.R.; Gough, F.J.; Lamey, H.A.; Eichenmuller, J.J. & Gallegly, M.E. Production and germination of oospores of *Phytophthora infestans*. **Phytopathology** 48: 165-171. 1958;
17. 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. **Fitopatol. bras.**, Brasília, v.22, suplemento, p. 316, 1997.