

CRESCIMENTO E ESPORULAÇÃO DE TRÊS RAÇAS DE *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) SOB QUATRO CONDIÇÕES DE LUMINOSIDADE

GROWTH AND SPORULATION OF THREE RACES OF *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) UNDER FOUR LIGHT INTENSITY CONDITIONS

SANTOS, Juliano dos¹; REY, Maristela dos S.²; ROSSETO, Edegar A.³; PIEROBOM, Carlos R.³

- NOTA TÉCNICA -

RESUMO

A luminosidade é um fator abiótico que pode influenciar o crescimento e a esporulação de muitas espécies de fungos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes fontes e intensidades de luz no crescimento e esporulação de isolados das raças 2, 31 e 2047 de *Colletotrichum lindemuthianum*. Isolados das três raças foram testados *in vitro* em quatro diferentes tratamentos: escuro contínuo, lâmpadas fluorescente luz-do-dia a 20 cm e a 40 cm e lâmpada de luz negra a 40 cm. Nenhum dos quatro tratamentos influenciou o crescimento micelial das raças 2; 31 e 2047 de *Colletotrichum lindemuthianum* em meio de cultura BDA (Batata Dextrose Agar), bem como a esporulação das raças 2 e 31. Para a raça 2047 de *Colletotrichum lindemuthianum* o escuro contínuo e a luz fluorescente a 40 cm de distância estimularam a esporulação em BDA.

Palavras-chave: luz, crescimento micelial, taxa de esporulação.

Fungos do gênero *Colletotrichum* são importantes agentes fitopatogênicos que causam antracnose em diversas culturas. *C. lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) é o agente causador da antracnose do feijoeiro, uma das mais importantes doenças desta cultura no Brasil. Desta forma, estudos relacionados com a fisiologia destes fungos se tornam relevantes, visando o combate à doença ou a obtenção de cultivares resistentes.

O cultivo *in vitro* destes fungos é de grande importância para a sua utilização em trabalhos que exijam inóculo puro e em quantidade pré-determinada. Para isto é necessário se estabelecer condições de cultivo que permitam o bom desenvolvimento destes microrganismos. Dentre estas condições, a luminosidade merece considerável atenção.

As raças ou patótipos de *C. lindemuthianum* são determinados por um modelo de infecção de isolados sobre um grupo diferencial de cultivares de feijão comum. A adoção de um grupo padrão de cultivares e nomenclatura, como o proposto por PASTOR-CORRALES (1991), tem permitido uma comparação consistente entre raças obtidas por diferentes pesquisadores. Mais de cem raças de *C. lindemuthianum* já foram identificadas em todo o mundo (RODRÍGUEZ-GUERRA et al., 2003).

A qualidade e a intensidade da luz são fatores que podem afetar a germinação de conídios, taxa de crescimento vegetativo, indução da formação de estruturas reprodutivas, pigmentação, forma e tamanho de grande parte das espécies fúngicas (TEIXEIRA et al., 2001; MINUSSI et al., 1977). Segundo COCHRANE (apud TEIXEIRA et al., 2001), a

irradiação luminosa pode induzir, inibir ou ter efeito neutro sobre o crescimento e a esporulação dos fungos.

A luz estimula a reprodução assexuada e sexual na maioria dos fungos, e seu efeito está intimamente relacionado à nutrição e à temperatura. Luz ultravioleta (UV) e com comprimento de onda próximos do ultravioleta (NUV, de *near ultraviolet*) normalmente induzem a esporulação, mas dosagens excessivas podem inibi-la (LEACH, 1967).

A maioria dos fungos sensíveis à luz esporula quando expostos à luz contínua, mas alguns, chamados de esporuladores diurnos, requerem um período no escuro seguidos por um período no claro. Alguns fungos requerem luz para iniciar a formação de conidióforo e a esporogênese; entretanto, a esporulação é inibida pela luz (DHINGRA & SINCLAIR, 1995).

As recomendações gerais para a indução da esporulação com luz, segundo DHINGRA & SINCLAIR (1995), são as seguintes: (1) uso de lâmpadas fluorescentes de luz negra emitindo radiação NUV em espectro contínuo de 320 a 420 nm; lâmpadas fluorescentes brancas frias do tipo luz-do-dia; (2) duas lâmpadas (40 W cada) horizontalmente separadas entre si por 20 cm e 40 cm acima das placas da cultura; (3) usar um ciclo alternado de 12 h de luz e escuro; (4) seguir irradiando por dois a três dias após o crescimento; e (5) utilizar placas de plástico ou vidro que permitam a passagem da luz.

Vários trabalhos já evidenciaram os efeitos da luminosidade no crescimento e na esporulação de fungos fitopatogênicos (TEIXEIRA et al., 2001; MINUSSI et al., 1977; LEACH, 1967), inclusive de algumas espécies de *Colletotrichum* sp., como, por exemplo, *C. truncatum* (ADEBITAN, 1994), *C. gloeosporioides* (AHMED, 1985) e *C. dematium* (RUSSO & PAPPELIS, 1990). Porém, não se tem informações de pesquisas deste tipo desenvolvidas com *C. lindemuthianum*.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da fonte e intensidade de luz no crescimento e esporulação de isolados de três raças distintas de *C. lindemuthianum*.

Discos (7mm de diâmetro) de micélio da periferia das colônias com crescimento ativo das raças 2; 31 e 2047 de *C. lindemuthianum*, isoladas de sementes de feijão e preservadas em meio BDA, foram transferidos individualmente para o centro de placas de Petri descartáveis (8 cm de diâmetro), contendo 10 mL de BDA. As placas assim preparadas foram incubadas à 20°C (± 1°C), numa câmara de crescimento com quatro compartimentos distintos:

(1) escuro contínuo (controle);

(2) duas lâmpadas fluorescente "luz-do-dia" (General Electric F40T, 40W) com períodos alternados de 12 h de luz e

¹ Biólogo, Mestrando do PPGFS. DFS/FAEM/UFPel. Campus Universitário. Caixa Postal 354. CEP 96010-900. Pelotas-RS

² Eng. Agr. Doutoranda do PPGFS. DFS/FAEM/UFPel. Campus Universitário. Caixa Postal 354. CEP 96010-900. Pelotas-RS

³ Eng. Agr. Dr. Prof do DFS/FAEM/UFPel. Campus Universitário. Caixa Postal 354. CEP 96010-900. Pelotas-RS

12 h de escuro, situadas a 40 cm acima das placas e com uma distância de 20 cm entre si;

(3) duas lâmpadas fluorescente "luz-do-dia" (General Electric F40T, 40W) com períodos alternados de 12 h de luz e 12 h de escuro, situadas a 20 cm acima das placas e com uma distância de 20 cm entre si;

(4) duas lâmpadas fluorescentes de luz negra NUV (Tohwalite TB40BLB, 40W) com períodos alternados de 12 h de luz e 12 h de escuro, situadas a 40 cm acima das placas e com uma distância de 20 cm entre si.

Por apresentar uma taxa de crescimento mais lento que a maioria dos fungos, o tempo de incubação deve ser superior àqueles normalmente utilizados em fitopatologia (7-10 dias). Medições do diâmetro da colônia foram realizadas a cada três dias até o 15º dia de incubação a fim de se obter a taxa média de crescimento (cm/dia), tendo como medida inicial os 7,0 mm correspondentes ao disco do meio contendo o inóculo inicial do fungo.

Ao final do 25º dia de incubação, foram preparadas suspensões de esporos das colônias obtidas, utilizando-se 10 mL de água destilada. Utilizou-se um pincel para facilitar a remoção dos esporos.

A determinação da concentração de esporos na suspensão foi determinada utilizando-se uma câmara de Neubauer, sendo que os resultados foram expressos em número de esporos por mL da suspensão (nº de esporos/mL).

O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado. Foram testadas três raças de *C. lindemuthianum* e quatro variáveis diferentes, sendo que foram feitas cinco repetições para cada fungo por tratamento. A análise estatística foi feita com o auxílio do software *Plot IT*. Foram feitos testes de média de crescimento e de esporulação das colônias de *C. lindemuthianum* (teste de Duncan 5 %).

As médias de crescimento entre os tratamentos não apresentaram diferença estatística segundo o teste de Duncan ao nível de 5 % de significância; resultado semelhante ao de AHMED (1985) que observou que a luz não se mostrou necessária para o crescimento de *C. gloeosporioides*. TEIXEIRA et al. (2001) observaram que *C. gossypii* apresentou crescimento micelial significativamente superior em condições de luz negra NUV, ao passo que as lâmpadas com emissão de luz do dia e fria comum não diferiram do controle.

A literatura tem revelado que existe uma grande variação em relação ao efeito da luz sobre o crescimento de *Colletotrichum* sp. RUSSO & PAPPELIS (1993), por exemplo, relataram que, ao contrário deste trabalho, colônias de *C. dematium* irradiadas com luz fluorescente apresentaram um aumento no crescimento micelial da ordem de 17 % em relação àqueles mantidas no escuro contínuo.

Com relação à taxa de esporulação, verificou-se diferença na preferência de luz entre as raças. Dentre elas, a raça 2047 obteve os resultados mais significativos de acordo com o teste de média de Duncan (Tabela 1), principalmente no escuro contínuo e no tratamento com luz fluorescente a 40 cm. As raças 2 e 31 tiveram médias semelhantes (Tabela 1), porém, ambas não foram influenciadas pelas fontes de luz.

TEIXEIRA et al. (2001) observaram que para *C. gossypii*, as lâmpadas NUV importadas estimularam a esporogênese em mais de 400 %, quando comparadas ao tratamento-controle. ADEBITAN (1994) verificou que sob escuro contínuo, *C. dematium* var. *truncata* (Schw.) Von Arx. teve sua taxa de esporulação inibida consideravelmente.

Esses resultados provavelmente estejam relacionados ao fato de que, embora muitos fungos possam esporular no

escuro, outros necessitam de um estímulo luminoso (DEACON, 1996).

Devido a estes fatos, pode-se concluir que fontes de luz não influenciam no crescimento micelial das raças 2; 31 e 2047 de *C. lindemuthianum* em meio de cultura BDA, bem como na esporulação das raças 2 e 31; para a raça 2047 de *C. lindemuthianum* o escuro contínuo e a luz fluorescente a 40 cm de distância estimulam a esporulação em meio de cultura BDA; portanto, o efeito da luminosidade depende da raça de *C. lindemuthianum*.

Tabela 1 - Taxa média de esporulação em meio de cultura BDA, das raças 2; 31 e 2047 de *Colletotrichum lindemuthianum* na presença de diferentes fontes de luz.

Tratamentos	Raças					
	2		31		2047	
Escuro contínuo	1.52	a	0.75	a	5.3	c
20 cm*	1.19	a	1.58	a	3.79	b
40 cm**	1.06	a	1.32	a	5.25	c
Luz negra NUV	1.69	a	0.97	a	2.38	a

Dados transformados para log (x + 1,0).

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, são estatisticamente iguais, de acordo com o teste de Duncan (5%).

*Lâmpada Fluorescente à distância de 20 cm acima da cultura do fungo.

** Lâmpada Fluorescente à distância de 40 cm acima da cultura do fungo.

ABSTRACT

The luminosity is an abiotic factor that may influence the growth and the sporulation of many fungi species. The objective of this work was to evaluate the effect of different sources and light intensities in the growth and sporulation of isolates of the races 2, 31 and 2047 of *Colletotrichum lindemuthianum*. Isolates of the three races were tested in vitro in four different treatments: continuous darkness, fluorescent lamps light of the day to 20 cm and 40 cm and black light. Neither of the four treatments influenced the micelial growth of the 2; 31 and 2047 of *Colletotrichum lindemuthianum* races in PDA (Potato Dextrose Agar), as well as the esporulation of the races 2 and 31. For the 2047 *Colletotrichum lindemuthianum* race the continuous darkness and the fluorescent light to 40 cm of distance stimulated the esporulation PDA.

Key words: light, micelial growth, sporulation rate.

REFERÊNCIAS

- ADEBITAN, S.A. Some factors influencing the growth and sporulation of *Colletotrichum truncatum* in culture media. **International Journal of Tropical Plant Diseases**, New Delhi, v.12, n.2, p.197-207, 1994.
- AHMED, K.M. Effect of temperature and light on the growth and sporulation of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. **Bangladesh Journal of Botany**, Dhaka, v.14, n.2, p.155-159, 1985.
- DEACON, J.W. **Modern Mycology**. 3. ed. Edinburgh: Blackwell Science, 1996. 293 p.
- DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Basic Plant Pathology Methods**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press. Inc., 1995.
- LEACH, C. M. Sporulation of diverse species of fungi under near ultraviolet radiation. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.40, n.1, p. 151-161, 1962.
- MINUSSI, E.; MACHADO, C. C., MENTEN, J. O. M., CASTRO, C., KIMATI, H. Efeitos de diferentes regimes de luz na

esporulação de *Stemphilum solani* Weber em meio de cultura.

Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.2, n.2, p. 167-171, 1977.

PASTOR-CORRALES, M.A. Estandarización de variedades diferenciales y designación de razas de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 81, p. 694, 1991.

ROCA, M.G.; DAVIDE, L.C.; WHEALS, A.E. Template preparation for rapid PCR in *Colletotrichum lindemuthianum*. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 34, p. 8-12, 2003.

RODRÍGUEZ-GUERRA, R.; RAMÍREZ-RUEDA, M.T.; MARTÍNEZ DE LA VEJA, O.; SIMPSON, J. Variation in

genotype, pathotype and anastomosis groups of *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from México. **Plant Pathology**, Imprenta London, v.52, p. 228-235, 2003.

RUSSO, V.M.; PAPPELIS, A.J. The effects of discrete wavelenghts of light on sporulation of *Colletotrichum dematium*. **Journal of the Rio Grande Valley Horticultural Society**, Carbondale, v.43, p.63-69, 1990.

TEIXEIRA, H; CHITARRA, L.G.; ARIAS, S.M.S.; MACHADO, J.C. Efeito de diferentes fontes de luz no crescimento e esporulação *in vitro* de fungos fitopatogênicos. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.25, n.6, p.1314-1320, 2001.