

ESPORULAÇÃO DE *C. graminicola* (Ces.) Wils. DO SORGO  
(*Sorghum bicolor*) (L.) Moench\*

Sporulation of *Colletotrichum graminicola* (Ces.)  
Wils. of *Sorghum bicolor* (L.) Moench

Elocy Minussi\*\* e Hiroshi Kimati\*\*\*

RESUMO

Utilizando-se 4 isolados de *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. provenientes de diferentes localidades estudou-se o efeito de: a) meios de cultura; b) Superposição de discos de papel filtro nos meios solidificados e c) Regime luminoso. Isolados desenvolvidos em meio de aveia com superposição de papel filtro e mantidos sob luz contínua esporulam abundantemente.

SUMMARY

The influence of the following factors on sporulation was tested by using of *C. graminicola* of *Sorghum* from four different localities: a) artificial media; b) filter paper discs placed on top of the artificial media and c) light regime. The isolates in an oat medium with filter paper on top and maintained under continuous light sporulated abundantly.

INTRODUÇÃO

Segundo SHARVELLE (11), os meios convencionais como BDA (bata-dextrose-ágar), BA (bean-ágar) e CMA (corn-meal-ágar) determinam abundante crescimento micelial, mas poucos esporos de *C. graminicola* isolado do sorgo. Meio de aveia em flocos e ágar foi o melhor para a esporulação, sendo que esta foi grandemente aumentada pela superposição de papel filtro Whatman.

Devido às dificuldades encontradas na produção de esporos para estudo das características morfológicas como de patogenicidade, procurou-se determinar alguns fatores nutricionais e ambientais como: meios de cultura, superposição de discos de papel filtro na superfície dos meios e regimes luminosos, que favorecem a esporulação de

\* Parte do trabalho apresentado para obtenção do título de Doutor em Fitopatologia, na ESALQ, Piracicaba, SP.

\*\* Professora Adjunta do Departamento de Defesa Fito-Sanitária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

\*\*\* Professor Livre-Docente do Departamento de Fitopatologia da ESALQ, USP, SP.

*C. graminicola* (Ces.) Wils.

#### MATERIAIS E MÉTODOS

Foram testados 3 diferentes meios de cultura: V-8, Aveia-Agar feitos segundo TUIITE (13) e Batata-dextrose-agar (BDA) de acordo com KELMAN (3) e TUIITE (13).

O delineamento experimental usado foi o inteiramente casualizado, esquema tipo fatorial  $3 \times 2 \times 2$  (3 meios de cultura, com e sem superposição de discos de papel filtro e 2 isolados de *C. graminicola* do sorgo: S-51 e S-10, originários de Santa Bárbara D'Oeste, SP e Ribeirão Preto, SP, respectivamente) com 3 repetições, perfazendo um total de 36 parcelas. Cada placa de Petri constituiu uma parcela. Os discos de papel filtro Whatman nº 1 foram colocados na superfície dos meios solidificados conforme REIS (10) e KIMATI (4).

A repicagem foi efetuada para o centro das placas, utilizando-se pequenos discos de 4 mm de diâmetro de meio de cultura contendo estruturas de reprodução de patógenos. Estes discos foram retirados com o auxílio de um furador de rolhas, da parte periférica de culturas com 12 dias de idade e mantidas em meio de aveia-âgar.

As placas de Petri foram incubadas em Biotronette Mark III por 12 dias, mantidas a 35 cm de distância de duas lâmpadas fluorescentes General Electric de 40 Watts (luz do dia) e a uma temperatura de 24-28°C.

A avaliação foi feita, 12 dias após a repicagem, pela contagem do número de conídios em 8 campos da câmara de Neubauer (Hemocitômetro) por placa.

No estudo da influência do regime luminoso na esporulação de *C. graminicola* foram utilizados 4 isolados obtidos do sorgo: S-10 (Ribeirão Preto, SP), S-25 (Cachoeira Dourada, MG), S-50 (Santa Maria, RS) e S.51 (Santa Bárbara D'Oeste, SP) e 3 regimes de luz: escuro contínuo, luz contínua e luz alternada (12 horas de luz e 12 horas de escuro). O escuro foi obtido pelo envolvimento das placas de Petri em papel alumínio.

O delineamento experimental planejado foi o inteiramente casualizado, constituído em esquema fatorial  $4 \times 3$ , mas por não ter sido observada esporulação no escuro foi usado para análise estatística o esquema fatorial  $4 \times 2$ , com 8 tratamentos e 3 repetições, perfazendo um total de 24 parcelas, sendo que cada placa de Petri constituiu uma parcela.

As técnicas de repicagem e avaliação foram semelhantes às já descritas no ensaio anterior.

## RESULTADOS

Os resultados da influência de meios de cultura e da superposição de papel filtro na esporulação de *C. graminicola* do sorgo constam da Tabela 1 e os dados obtidos para esporulação de 4 isolados de *C. graminicola* do sorgo em 2 diferentes regimes de luz são apresentados na Tabela 2. A esporulação correspondente ao tratamento escuro contínuo foi nula não aparecendo, por esse motivo, na Tabela 2.

Tabela 1. Influência de meios de cultura e da superposição de papel filtro na esporulação de dois isolados de *C. graminicola* do sorgo.

ISOLADOS	MEIOS DE CULTURA	Nº DE CONÍDIOS ( $\times 10^3$ ) POR PLACAS*		
		C/papel filtro	S/papel filtro	Média**
S-51	Aveia	35,99	28,02	30,2a
S-10		32,56	24,39	
S-51	BDA	23,72	19,26	20,3b
S-10		20,43	17,83	
S-51	V-8	13,08	8,06	11,84c
S-10		15,66	10,56	
Média**		23,57	18,02	

\* Média de 3 placas, cada placa constituída da média de 8 contagem de 8 campos da câmara de Neubauer (Hemocitômetro).

\*\* Médias não seguidas pela mesma letra diferem significativamente, ao nível de 5% (Tukey).

A análise da variância revelou um efeito altamente significativo para os meios de culturas, presença de papel filtro na esporulação de *C. graminicola* do sorgo e apenas significativo para a interação isolados x meios de culturas.

Os três meios comportaram-se estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey a 5%, sendo que o meio de aveia-ágar apresentou maior esporulação seguido pelo meio de BDA e V-8.

Tabela 2. Influência de 2 regimes luminosos na esporulação de isolados de *C. graminicola* do sorgo. 4

ISOLADOS	Nº DE CONÍDIOS ( $\times 10^3$ ) POR PLACA*		
	LC	LA	Média**
S-10	43,37 a	26,64 a	35,00 a
S-51	41,29 ab	20,16 ab	30,72 ab
S-25	35,06 bc	18,72 b	26,89 bc
S-50	28,93 c	21,83 ab	25,38 c
Média	27,16	21,84	39,33

\* Média de 3 placas, cada placa representada pela média de contagem de 8 campos da câmara de Neubauer (Hemocitômetro).

\*\* Médias não seguidas pela mesma letra diferem estatisticamente ao nível de 5% (Tukey).

LC = Luz contínua

LA = Luz alternada

A análise de variância mostrou que houve efeito de isolados, do regime luminoso e interação dos dois fatores.

Os isolados de S-10 e S-51 foram os que produziram maior número de conídios e o melhor regime luminoso foi o de luz contínua para todos os isolados.

O isolado S-50 foi o menos influenciado pelo regime luminoso, com luz alternada foi equivalente aos isolados S-10 e S-51.

#### DISCUSSÃO

Os resultados do ensaio, mostrando que o meio de aveia-ágar é superior aos meios de BDA- e V-8 (Tabela 1) concordam com os obtidos com outros fungos, por REIS (10); VEIGA (14) e KIMATI (4).

O efeito provável do papel filtro na esporulação era esperado, em conformidade com SHARVELLE (11) e com relatos da literatura para outras espécies fúngicas (LUKENS, 8; McDONALD & MARTENS, 9 e REIS 10). Isso, embora KIMATI (4) tenha demonstrado que o efeito favorável ou desfavorável do papel filtro depende da concentração do meio de cultura. REIS (10) especulou se o papel desempenhado pela celulose do papel filtro não seria o de aumentar a superfície de esporulação. Pode-se, entretanto, ter outras explicações, pois o efeito indutor do papel filtro na esporulação de *Alternaria zinniae* foi con

guido por McDONALD & MARTENS (9), cobrindo discos de papel filtro empregnado de suco V-8, com ágar água.

A influência favorável da luz na esporulação de fungos Imperfeitos é conhecida há muito tempo (LILLY & BARNETT, 7; HAWKER, 2; COCHRANE, 1; TUIITE, 13; LEACH, 5 e KIMATI, 4). Apesar desse reconhecimento do efeito na esporogênese, não se conhecem os compostos que possam atuar como receptores de luz, nem os seus mecanismos de ação.

Segundo LEACH (6), em fungos foto sensíveis por ele estudados substâncias esporogênicas são induzidas a se formar pela ação da luz ultravioleta de comprimento de onda de aproximadamente 310 nm. É possível que *Colletotrichum graminicola* usado no presente trabalho (Tabela 2) se enquadre dentro desse grupo, de vez que a análise do espectro de radiação de lâmpadas fluorescentes à luz do dia, revela a presença de radiações com comprimento de onda de 310 nm (LEACH, 5), pico de absorção de substâncias esporogênicas isoladas por TRIONE, LEACH & MUTCH (12).

A diferença na capacidade de esporulação entre isolados observada no presente trabalho pode ser atribuída às diferenças genéticas daqueles.

#### CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos, pode-se concluir que as melhores esporulações de *Colletotrichum graminicola* são obtidas em meio de aveia-ágar com superposição de papel filtro sob luz contínua.

#### LITERATURA CITADA

1. COCHRANE, V.W. - *Physiology of fungi*. New York, John Wiley & Sons, Inc. 1958. 524p.
2. HAWKER, L.E. - *The physiology of reproduction in fungi*. Cambridge, Cambridge University Press, 1957. 128p.
3. KELMAN, A. - *Sourcebook of laboratory exercises in plant pathology*. San Francisco, Freeman, 1967. 387p.
4. KIMATI, H. - *Taxonomia, esporulação e patogenicidade de Colletotrichum graminicola (Ces.) Wils (Sensu Arx, 1957)*. Piracicaba, São Paulo, 1975. 103p. (Tese de Livre-Docência).
5. LEACH, C.M. - A practical guide to the effects of visible and ultraviolet light on fungi. In: NORRIS, J.R. & RIBBONS, D.W. (Eds). *Methods in Microbiology*. New York, Academic Press, 1971. Cap. 23, p.609-663.
6. LEACH, C.M. - Detection of ultraviolet absorbing substances living mycelium of fungi. *Micologia*, Lancaster, Pennsylvania, 57:291-300, 1975.

7. LILLY, V.G. & BARNETT, H.L. - *Physiology of the fungi*. New York, Mc Graw-Hill Book Company, Inc. 1951. 464p.
8. LUKENS, R.L. - Conidial production from filter paper cultures of *Helminthosporium vagans* and *Alternaria solani*. *Phytopathology*. St. Paul, Minnesota, 50:867-868, 1960.
9. McDONALD, W.C. & MARTENS, J.W. - Leaf and stem spot of sunflowers caused by *Alternaria zinniae*. *Phytopathology*, St. Paul, Minnesota, 53:93-96, 1963.
10. REIS, E.M. - Efeito da concentração de inóculo de *Colletotrichum dematium* f. *truncata* (Schw.) Von Arx na reação de variedades de soja (*Glycine max* (L.) Merr. Piracicaba, ESALQ, 1973. 48p. (Tese de Mestrado).
11. SHARVELLE, E.C. - *Sorghum diseases in Brazil*. In: INTERNATIONAL SORGHUM WORKSHOP, Mayagüez, Porto Rico, 1975. p. 212-222.
12. TRIONE, E.J.; LEACH, C.M. & MUTCH, J.T. - Sporogenic substances isolated from fungi. *Nature*, London, 212:163-164, 1966.
13. TUIITE, J. - *Plant Pathological Methods, Fungi and Bacteria*. Minneapolis, Burgess, Publishing Company. 1969. 239p.
14. VEIGA, P. - *Cercospora sojina* Hara: obtenção de inóculo, inoculação e avaliação da resistência em soja (*Glycine max* (L.) Merril). Piracicaba, São Paulo. 1973. 32p. (Tese de Mestrado).