

EFEITO DA TEMPERATURA NO CRESCIMENTO MICELIAL, PRODUÇÃO E GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS DE *Colletotrichum* spp. ISOLADOS DE MANGUEIRA COM SINTOMAS DE ANTRACNOSE

EFFECT OF TEMPERATURE ON MYCELIAL GROWTH, PRODUCTION AND GERMINATION Colletotrichum spp. ISOLATED FROM MANGO WITH SYMPTOMS OF ANTHRACNOSE

Fernanda Gonçalves Martins MAIA¹; Cecília ARMESTO²; Willian Luis Antonio ZANCAN³; Jader Braga MAIA⁴; Mario Sobral de ABREU⁵

1. Engenheira Agrônoma, Doutoranda em Agronomia (Fitopatologia), bolsista Capes, Universidade Federal de Lavras-UFLA, Lavras, MG, Brasil. feagrosal@yahoo.com.br; 2. Engenheira Agrônoma, bolsista Cnpq, Doutoranda em Agronomia (Fitopatologia) - UFLA, Lavras, MG, Brasil; 3. Engenheiro Agrônomo, bolsista Capes, Mestrando em Agronomia (Fitopatologia) - UFLA, Lavras, MG, Brasil; 4. Engenheiro Agrônomo, bolsista Fapemig, Doutorando em Agronomia (Entomologia) -UFLA, Lavras, MG, Brasil; 5. Professor Doutor, UFLA, Lavras, MG, Brasil.

RESUMO: Muitos são os problemas fitossanitários encontrados na cultura da mangueira (*Mangifera indica* L), dentre eles destaca-se o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* causador da antracnose, doença que atinge todos os órgãos da planta. O presente trabalho teve como objetivo analisar a influência da temperatura no desenvolvimento das colônias de três isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos de diferentes órgãos da mangueira. Os três isolados apresentaram melhor crescimento micelial na faixa de temperatura de 20 a 25 °C. A faixa de temperatura de 25 a 30 °C demonstrou se mais eficiente em relação à germinação de conídios e esporulação para os isolados de *Colletotrichum* spp.

PALAVRAS-CHAVE: *Mangifera indica*. Comportamento. Taxa de esporulação.

INTRODUÇÃO

A mangueira (*Mangifera indica* L.) é considerada uma das mais importantes frutas tropicais cultivadas no mundo, posicionando-se logo após a banana, o abacaxi e o abacate (GALAN, 1993). Atualmente é produzida em mais de 100 países sendo a maior parte e produzida em países em desenvolvimento, como Índia, Paquistão, México, Brasil e China (PEROSA, 2002).

Não obstante, muitos são os problemas encontrados na cadeia produtiva desta cultura, em muitos casos, limitantes à sua exploração comercial, tendo em vista perdas qualitativas e quantitativa. Um dos mais importantes é o ataque de microrganismos fitopatogênicos destacando-se o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.). Penz. e Sacc. anamorfo de *Glomerella cingulata* (Stoneman) Spauld. e H. Schrenk. (CHITARRA; CHITARRA, 1990; PLOETZ, 1994; CUNHA et al., 2002), responsável pela perda de qualidade dos frutos produzidos neste cultivo. Todos os órgãos da planta são afetados (flores, panículas, ramas, folhas e frutos) (PLOETZ, 1994). A infecção nos frutos caracteriza-se pela presença de manchas de coloração escura que ao se coalescerem aumentam de tamanho, tornando o fruto totalmente impréstatível para sua comercialização, principalmente quando se trata de mercado internacional. O mesmo é

responsável por causar uma das doenças mais graves da mangueira a antracnose (JUNQUEIRA et al, 2002).

No Brasil, estudos envolvendo caracterização morfológica, patogênica e molecular sugerem o *C. gloeosporioides* como o único agente causal responsável pela antracnose da mangueira (PERES et al, 2002). No entanto, na Austrália, além dessa espécie há também comprovação da participação de sua variante, *C. gloeosporioides* var. *minor*, e de *C. acutatum*, que também ocorre na Índia (FITZELL, 1984; PLOETZ, 1994).

Espécies de fungos são tradicionalmente diferenciadas com base em caracteres morfológicos e culturais, porém, no caso do *Colletotrichum* esta identificação encontra dificuldades em função da grande diversidade fenotípica e instabilidade destes caracteres em função do ambiente (ANDRADE et al., 2007). Desta forma, estudos relacionados ao comportamento de espécies de isolados de *Colletotrichum* associados aos sintomas de antracnose em mangueiras fornecem subsídios para um melhor conhecimento do patossistema Mangueira - *Colletotrichum* spp.

Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *Colletotrichum* spp isolados de diferentes órgãos de mangueira com sintomas de antracnose.

MATERIAL E METODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Diagnóstico e Controle de Enfermidades de Plantas do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras-MG, no período de 20/01 a 22/03 do ano de 2010.

Obtenção de isolados

Os isolados de *Colletotrichum* spp. foram obtidos de materiais com sintomas da doença, provenientes de plantas de mangueira da cultivar Haden (Tabela 1).

Tabela 1. Identificação, procedência, sintomas e parte da planta onde foram encontrados os isolados de *Colletotrichum* spp.

Identificação	Parte da planta onde foi isolado	Sintoma	Procedência
I-1	Fruto	Antracnose	Lavras, MG
I-2	Haste	Antracnose	Lavras, MG
I-3	Folha	Antracnose	Lavras, MG

Para isolar o fungo, fragmentos dos materiais enfermos foram lavados com água, passados no álcool 50% por 1 minuto, hipoclorito de sódio a 1% por 30 segundos e em água esterilizada, sendo, colocados em placas de Petri, com 9 cm de diâmetro, contendo, em média 20 mL de meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar). Posteriormente, foram incubados por sete dias em BOD a 22 °C e fotoperíodo de 12 horas. As colônias purificadas foram então utilizadas para obtenção de culturas monospóricas. Discos de micélio com 6 mm de diâmetro das culturas monospóricas foram transferidos para placas contendo 20 mL de meio BDA e submetidos às temperaturas de 20°, 25°, 30° e 35 °C, com fotoperíodo de 12 horas, durante sete dias, em BOD.

Avaliação do crescimento micelial

A avaliação do crescimento micelial foi feita através da medição, a cada 24 horas, do diâmetro das colônias, em posição ortogonal, durante sete dias, a partir do momento em que foi colocado o disco de micélio com os isolados no meio de cultura, obtendo-se sete leituras. Esses dados foram utilizados no cálculo do índice de velocidade de crescimento micelial, conforme a fórmula descrita por Oliveira (1991):

$$IVCM = \frac{\sum (D - D_a)}{N}$$

Sendo:

IVCM= índice de velocidade de crescimento micelial

D= diâmetro médio atual da colônia

Da= diâmetro médio da colônia do dia anterior

N= número de dias após a inoculação

Avaliação da germinação e produção de conídios

Foi feita aos sete dias após a avaliação do crescimento dos isolados. Para determinar a produção de conídios, fez-se uma suspensão, com a

mesma quantidade de água por placa (2 mL), constituindo 10 lâminas por isolado. Posteriormente, procedeu-se à contagem do número de conídios em câmara de Neubauer.

Quanto à porcentagem de germinação conidial, uma alíquota de 20µL da suspensão dos conídios na concentração de 2×10^6 foi colocada em microtubo de ensaio. Os microtubos foram mantidos em câmara de crescimento (BOD) a 20, 25, 30 e 35 °C. Após 24 horas, procedeu-se à leitura, contando-se 100 conídios por lâmina por repetição. Foi considerado germinado o conídio cujo tubo germinativo apresentava 50% do seu tamanho.

Durante o ensaio ainda foi verificada a diferença de coloração das colônias aos sete dias de incubação do fungo e algumas características reprodutivas e de sobrevivência dos isolados, tais como: forma perfeita, acérvulos e escleródios após trinta dias de incubação.

Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com dez repetições em esquema fatorial, constituído por três isolados e quatro temperaturas. As análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico SISVAR. As variáveis significativas no teste F da análise de variância foram submetidas ao teste de médias e à análise de regressão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve interação significativa para o índice de crescimento micelial (IVCM) considerando os isolados analisados e a temperatura. Os três isolados possuíram comportamento semelhante, apresentando uma única regressão (Figura 1). Porém, conforme o teste de médias, entre os isolados houve diferença significativa para o crescimento das colônias (Tabela 2). Todos os

isolados apresentaram melhor desenvolvimento entre as temperaturas de 20 a 25 °C. Foi observado que para o crescimento diário de colônias dos isolados de *Colletotrichum* spp. praticamente todos

apresentaram crescimento médio superior a aproximadamente 5 mm.dia⁻¹, destacando-se o isolado I-3 o qual apresentou velocidade média de 7 mm.dia⁻¹.

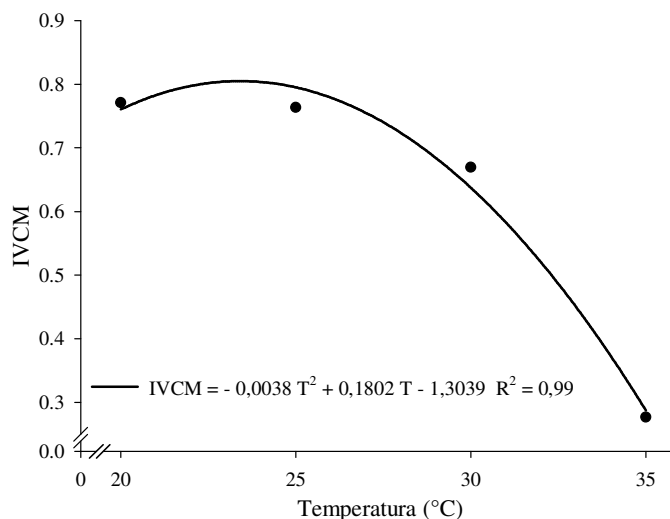


Figura 1. Índice de velocidade de crescimento médio (IVCM) de isolados I-1, I-2, I-3, de *Colletotrichum* spp. isolados de mangueira em diferentes temperaturas.

Tabela 2. Índice de velocidade média de crescimento (IVCM) de *Colletotrichum* spp. isolados de mangueira com sintomas de antracnose. UFLA, Lavras, 2010.

Isolado	IVCM
I - 1	0,47* c
I - 2	0,66 b
I - 3	0,72 a

Médias seguidas por mesma letra, não diferem estatisticamente ao nível de 5% pelo teste de Scott Knott.

Para a maioria das espécies de *Colletotrichum* a temperatura ideal para o crescimento vegetativo está entre a faixa de 25° C a 30° C (Sutton, 1992). Pimenta 2009, estudando diferentes isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* obtidos de mangueira verificou que para a temperatura de 25°C ocorria o melhor desenvolvimento do fitopatogeno. Tozze Junior et al. (2006), verificaram ao analisar o crescimento de colônias de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* obtidos de solanáceas, que o melhor desenvolvimento das colônias deu-se na faixa de temperatura entre 25° C e 28°C. Smith e Black (1990), observaram isolados de *C. acutatum* e *C. gloeosporioides* submetidos a 28° e 32° C, os quais puderam ser diferenciados após 5 dias conforme sua velocidade de crescimento.

Para a germinação e produção de conídios, houve interação significativa entre os isolados e a temperatura. Em relação à temperatura ótima, não

se verificou diferença entre os isolados. Todos os três apresentaram a temperatura ótima para a germinação e produção de conídios no intervalo de 25 a 30 °C. Porém em relação ao comportamento dos isolados, o I-2 destaca-se alcançando os maiores índices (Figura 2).

Para fungos do gênero *Colletotrichum* a temperatura ótima para esporulação e germinação de conídios pode variar muito. Goos e Tschirsch (1962), citaram a faixa de 27-30 °C de *Colletotrichum musae*, enquanto Cox e 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 *Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Sacc. do maracujazeiro, de *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) Hughes, e sendo 16 °C a melhor temperatura para esporulação de *Colletotrichum lagenarium* (Pass.) Ell. e Halst (COUTO; MENEZES, 2004).

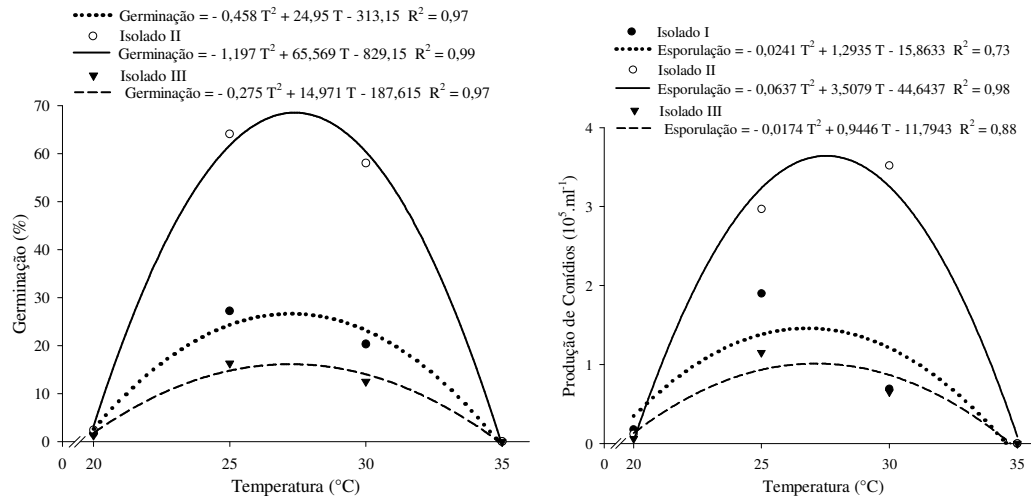


Figura 2. Produção e germinação de conídios de *Colletotrichum* spp. isolados de mangueira, submetidos a diversas temperaturas.

A coloração das colônias foi uma característica pouco variável dentro dos isolados estudados. Os isolados II e I2 apresentaram coloração rósea e crescimento mais superficial e permanente com características pouco constante. As colônias apresentaram mudanças de tonalidades dentro desses isolados, principalmente quando da replicação do mesmo. Essa mudança na coloração foi observada para todas as temperaturas após 48 horas de incubação. Segundo Orozco 2003 esse tipo de comportamento é chamado de setor, que consiste na mudança de cor de uma colônia de rósea a cinza, o que aconteceu no presente estudo. Quanto ao isolados I3, o mesmo apresentou coloração branca acinzentada desde o início até o fim do experimento mesmo após repicagem para todas as temperaturas

utilizadas (Tabela 3). Com relação às características culturais, as cores das colônias variaram dentro das tonalidades de cores descritas para o gênero *Colletotrichum* (SUTTON, 1992). Variações de coloração de *Colletotrichum* spp. já foram confirmadas por Várzea (1995) e Gunnell e Grubler, (1992) reforçando a afirmação que a coloração de colônias de isolados de *Colletotrichum* spp. é uma característica muito variável, tornando inconsistente para distinção comportamento dentro e entre espécies.

Em relação à produção de acérvulos aos 30 dias de incubação foram verificados nos isolados I-1 e I-3, já os peritécios foram verificados apenas no isolado I-2.

Tabela 3. Características culturais e reprodutivas de isolados de *Colletotrichum* spp. isolados de mangueira com sintomas de antracnose. UFLA, Lavras, 2010.

Isolado	Coloração da colônia	Aspecto	Setores	Setas	Acérvulos	Peritécios
1	Rose/Cinza	Superficial	+	-	+	-
2	Rósea/Cinza	Superficial	+	-	-	-
3	Branca	Cotonoso	-	-	++	+

+ Presente; ++ presente em forma abundante; - ausente

Segundo Pimenta (2009), em termos gerais, espécies de *Colletotrichum* são diferenciadas com base em caracteres morfológicos e culturais. Características como morfologia de conídios, presença de setas, coloração de colônia, produção de pigmentos e taxa de crescimento, assim como a presença do teleomorfo tem sido usada para diferenciar, *in vitro*, ou caracterizar espécies

morfologicamente próximas, como *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*.

Dentre outros fatores que contribuem para as diferenças nos caracteres morfológicos incluem-se ainda a influência de fatores ambientais e existência de formas intermediárias (LOPEZ, 2001). A temperatura exerce grande influência no desenvolvimento em fungos do gênero

Colletotrichum, tanto em seu crescimento micelial, na esporulação e germinação de conídios e até na coloração das colônias, podendo também deste modo, ser utilizada como parâmetro para diferenciação entre espécies.

Sabe-se que temperaturas extremas ou limítrofes são responsáveis por aumentar o tempo para iniciar uma epidemia ou ainda atuam de

maneira direta nos seus componentes, como por exemplo, aumentando o período latente e de incubação (ROTEM, 1978; DIAS et al, 2005). Segundo Dias et al (2005), a temperatura é uma das principais variáveis climáticas responsáveis pela infecção e posterior colonização de patógenos do gênero *Colletotrichum*.

ABSTRACT: Many disease problems are found in the culture of mango (*Mangifera indica* L), among them stands out *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose disease, which affects all plant organs. This study aimed to analyze the influence of temperature on the development of colonies of three isolates of *Colletotrichum* spp. obtained from different organs of the hose. The three isolates showed better mycelial growth in the temperature range 20-25 ° C. The track temperature 25-30 ° C showed more efficient in relation to the germination of conidia and sporulation for *Colletotrichum* spp.

KEYWORDS: *Mangifera indica*. Behavior. Sporulation rate.

REFERENCIAS

- ANDRADE, E. M., UESUGI, C. H., UENO, B.; FERREIRA, M. A. S. V. Caracterização morfo-cultural e molecular de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* patogênicos ao mamoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, p. 021-031, 2007.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: Fisiologia e manuseio**. Lavras, MG: ESAL/FAEP, 1990, 45p.
- COUTO, E. F.; MENEZES, M. Caracterização fisiomorfológica de isolados de *Colletotrichum musae*. **Fitopatologia Brasileira**. Lavras, v. 29, p. 406-412, 2004.
- 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**. Austrália, v. 25, n. 1, p. 139-144. 1988.
- CUNHA, G. A. P.; CASTRO NETO, M. T. Implantação de pomar. In: Manga Produção: aspectos técnicos da manga no estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 381-384. 2002.
- DIAS, M. D.; POZZA, E. A.; ABREU, M. S.; OROSCO-MIRANDA, E.; Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *Colletotrichum* spp. isolados de *Coffea arabica* L. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 29, n. 3, p. 545-552. 2005.
- FITZELL, R. D. and PEAK, C. M. The epidemiology of anthracnose disease of mango: inoculum, sources, spore production and dispersal. **Annals of Applied Biology**. v. 104, p. 53-59. 1984.
- GALAN, V. The situations of mango culture in the world. **Acta Horticulture**. Belgium, v. 241, p. 31-41, 1993.
- GOOS, R. D.; TSCHIRSCH, M. Effect of environmental factors on spore germination, spore survival, and growth of *Gloeosporium musae*. **Mycologia**. Oregon, v. 54, p. 353-367. 1962.
- GUNNEL, P.; GUBLER, W. D. Taxonomy and morphology of *Colletotrichum* species pathogenic to strawberry. **Mycologia**. Oregon, v. 84, p. 157-165. 1992.

- JUNQUEIRA, N. T. V.; PINTO, A. C. de Q.; CUNHA, M. M.; RAMOS, V. H. V. **Controle das doenças da mangueira**. In: ZAMBOLIM, M.L. (Org.) Controle de Doenças de Plantas: Fruteiras. Viçosa-MG: UFV, v. 1, p. 323-404, 2002.
- LOPEZ, A. M. Q. Taxonomia, patogênese e controle de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Brasília, v. 9, p. 291-337. 2001
- OLIVEIRA, J. A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativas* L.) e pimentão (*Capsicum annanum* L.)**. 1991. 111p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1991.
- OROZCO MIRANDA, E. F. **Caracterização morfológica, molecular, bioquímica e patogênica de isolados de *Colletotrichum* spp. associados ao cafeeiro em Minas Gerais e comparação com *Colletotrichum kahawae***. 2003. 147 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- PERES, N. A. R.; KURAMAE, E. E.; DIAS, M. S. C.; SOUZA, N. L. Identification and characterization of *Colletotrichum* spp. affecting fruit after harvest in Brazil. **Journal of Phytopathology**. Oxford, v. 150, p. 128-134. 2002.
- PEROSA, J. M. Y.; PIERRE, F. C. Técnicas de pós-colheita e expansão da cultura da manga no estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 381-384. 2002.
- PIMENTA, A. A. **Caracterização morfométrica, patogênica e genética de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da antracnose em manga (*Mangifera indica* L.)**. 2009. 79 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.
- PLOETZ, R. C. Mango Diseases Caused by Fungi: Antracnose. In: Ploetz, R. C.; Zentmeyer, G. A.; Nishijima, N. T.; Rohrbach, K. G.; Ohr, H. D. (Ed.). **Compendium of Tropical Fruit Diseases**. St. Paul: American Phytopathological Society, 1994. p. 35-36.
- ROTEM, J. **Climate and weather influence on epidemics**. In: HORSFALL, J. G.; DIMOND, A. E. (Ed.). Plant disease: how disease develops in populations. New York: Academic, 1978. p. 317-436.
- SMITH, B. J.; BLACK, L. L. Morphological, cultural and pathogenic variation among *Colletotrichum* sp. isolated from strawberry. **Plant Disease**. v. 74, p. 69-76. 1990.
- SUTTON, B. C. **The genus *Glomerella* and its Anomorph *Colletotrichum***. In: Bayley, J. A.; Jeger, M. J. (Ed.). *Colletotrichum*, biology, pathology and control. Wallingford: C. A. B. international, 1992. p. 1-26.
- TOZZE JUNIOR, H. J.; MELLO, B. A.; MASSOLA-JUNIOR, N. S. Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanaceas. **Summa Phytopathologica**. Botucatu, v. 32, n. 1, p. 77-79, 2006.
- VARZEA, V. M. P. **Variabilidade em *Colletotrichum* spp. de cafeeiro. Pesquisa de fontes de resistência ao *C. kahawae***. 1995. 128 p. Dissertação (Investigador auxiliar) – Instituto de Investigação Científica Tropical, Lisboa, Portugal.