

Efeito de meios de cultura e de regimes de luz no crescimento micelial e esporulação de *Cercospora cruenta*, agente da Mancha Necrótica do Caupi

Sônia Maria Alves de OLIVEIRA¹, Denise M^a Wanderley da SILVA², Maria MENEZES³

RESUMO: Avaliou-se o crescimento e esporulação de *Cercospora cruenta*, isolado de lesões em folhas de caupi, em seis diferentes meios de cultura (aveia, BDA, cenoura, folhas de feijão, milho e soja) e três regimes de luz: 12 horas claro - 12 horas escuro, claro contínuo, escuro contínuo). Discos de ágar contendo estruturas do fungo foram depositados no centro de placas de Petri com os diferentes substratos, fazendo-se a incubação a 25±2°C, nos três regimes de luminosidade. A avaliação do crescimento micelial foi efetuada diariamente, através da medição do diâmetro da colônia, sendo que a esporulação foi avaliada aos 15 dias após, através da contagem do número de esporos. Os meios de cenoura, folhas de feijão e soja, em regime lanternado de luz, foram os melhores para o crescimento de *C. cruenta*. A melhor esporulação foi obtida no meio de soja, em regime de alternância de luz.

Palavras-chave: Metodologia, *Cercospora cruenta*, Caupi

INTRODUÇÃO

O feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.)Walp.) é cultivado predominantemente nos Estados do Nordeste brasileiro, sendo uma espécie bastante apreciada, tratando-se de cultura de subsistência dos povos menos favorecidos.

Devido à ampla expansão da cultura nos últimos anos, tem-se verificado um aumento na ocorrência de doenças, dentre estas a mancha de folha causada pelo fungo *Cercospora cruenta*. Segundo Singh e Rachie (1985), até recentemente esta espécie era conhecida dentro deste gênero, sendo agora relatada como *Pseudocercospora cruenta*. Em geral, os sintomas só são evidenciados durante o florescimento da cultura, mas em variedades suscetíveis, a doença pode causar desfolhamento prematuro devido a evolução rápida da planta. O patógeno é disseminado pelas sementes (Williams, 1975).

As espécies do gênero *Cercospora* caracterizam-se por apresentar crescimento lento e pequena esporulação em meio artificial em condições de laboratório, o que tem levado alguns pesquisadores à realização de trabalhos para indução da produção de conídios. Visando o cultivo e esporulação tanto de *C. caribae*, bem como *C. henningsii*, agentes causais de manchas foliares em mandioca, Silva *et al.* (1988) estudaram diferentes meios de cultura, sendo observado que a máxima esporulação de *C. henningsii* ocorreu sobre o meio de extrato de folhas de mandioca-ágar + extrato de malte composto, enquanto que a esporulação de *C.*

caribae foi obtida utilizando-se os meios acrescidos de biotina. Del Peloso *et al.* (1989) constataram a melhor esporulação de *C. coffeicola* aos sete dias, sob regime de luz contínua e alternada, em meio de suco de vegetais + PANVIT-M, havendo uma redução drástica na produção de esporos aos 14 dias.

Poucos são os trabalhos realizados em condições de laboratório, que utilizaram meios de cultura. Alguns meios foram desenvolvidos para espécies de *Cercospora* usando-se folhas do próprio hospedeiro, como é o caso de *C. arachidicola* em amendoim (Alderman e Bente, 1987) e *Pseudocercospora herpotrichoides* em aveia (Bruehl e Machtmes, 1985).

Este trabalho teve como objetivo avaliar diferentes meios de cultura dentro de distintos regimes de luz, no crescimento micelial e esporulação de *C. cruenta*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos em condições de laboratório, empregando-se um isolado de *C. cruenta* obtido de folhas de caupi, apresentando sintomas típicos da doença.

Foram utilizados seis meios de cultura: aveia (20g de farelo de aveia, 20g de dextrose e 17g de ágar); BDA (200g de batata, 20g de dextrose e 17g de ágar); cenoura (200g de cenoura, 20g de dextrose e 17g de ágar); folhas de feijão (20g de folhas de feijão caupi, 20g de dextrose e 17g de ágar); milho (20g de farelo de milho, 20g de dextrose e 17g de ágar) e soja (20g de farinha de soja, 20g de dextrose e 17g

¹ Prof. Adjunto do Depto. de Agronomia da UFRPE

² Bióloga do Depto. de Agronomia da UFRPE

³ Prof. Adjunto do Depto. de Agronomia da UFRPE

de ágar), tendo sido cada meio preparado em 1000ml de água destilada.

Para determinação da velocidade de crescimento de *C. cruenta*, discos de 4mm de diâmetro, contendo estruturas do fungo, foram removidos de cultura matriz e colocados no centro de cada placa de Petri de 9cm de diâmetro, contendo os diferentes meios. As placas foram incubadas à temperatura ambiente (25±2°C), durante 14 dias, em três regimes de luz: claro contínuo, alternado (12h claro - 12h escuro) e escuro total.

Na avaliação, efetuaram-se medições diárias do diâmetro das colônias, em dois sentidos opostos, obtendo-se a média para cada placa. A velocidade de crescimento foi determinada segundo Lilly e Barnett (1951). A partir destes dados elaborou-se a curva de crescimento do fungo, em cada um dos meios utilizados.

Para determinação da esporulação, 20ml de água destilada estéril foram adicionados a superfície das colônias para facilitar a liberação dos conídios. Com auxílio de uma escova de cerdas macias fez-se a remoção das estruturas do fungo, obtendo-se, após filtração em três camadas de gaze esterilizada, a suspensão de esporos. A contagem de esporos foi avaliada em câmara de Neubauer, estabelecendo-se a média de dois campos para cada uma das repetições.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial, representados pelos meios de cultura, regimes de luz, com quatro repetições. Os dados referentes a esporulação foram transformados em \sqrt{x} , para efeito de análise estatística, e comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados mais promissores no crescimento micelial de *C. cruenta*, foram obtidos no meio de cenoura (21,50 mm) e folhas de feijão (21,25 mm) sob regime de luz alternado, não diferindo entretanto, do meio de soja (18,75 mm). No regime claro contínuo, o meio de cenoura (19,00 mm) seguido do BDA (16,75 mm) e soja (16,37 mm), ofereceram melhores resultados. No escuro contínuo, o crescimento micelial de *C. cruenta* foi maior no meio de folhas de feijão (19,00 mm), seguido do cenoura (18,25 mm), BDA (18,25 mm), soja (17,50 mm) e milho (17,25 mm) (Figura 1). Asmus e Dhingra (1983) obtiveram um bom crescimento micelial de *C. vanderysti* no meio BDA a temperatura de 20°C, não ultrapassando o diâmetro de 9,25 mm após quatro semanas

de incubação, característica esta dos fungos pertencentes ao gênero *Cercospora*.

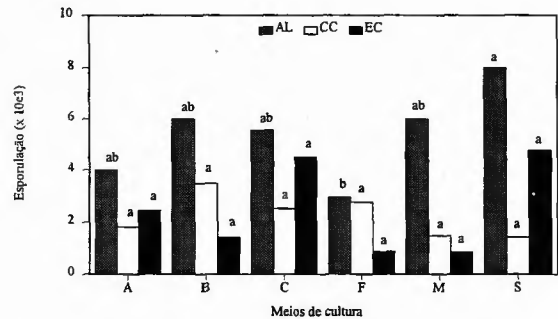


Figura 2. Esporulação de *Cercospora cruenta*, em diferentes meios (A=aveia, B=BDA, C=cenoura, F=folhas de feijão, M=milho, S=soja) e três regimes de luz (AL=alternado, CC=claro contínuo, EC=escuro contínuo), após 14 dias de incubação.

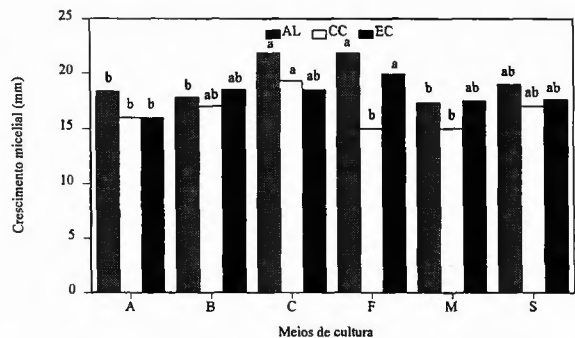


Figura 1. Crescimento micelial de *Cercospora cruenta*, nos diferentes meios (A=aveia, B=BDA, C=cenoura, F=folhas de feijão, M=milho, S=soja) e três regimes de luz (AL=alternado; CC=claro contínuo, EC=escuro contínuo), após 14 dias de incubação.

No que diz respeito a esporulação nos diferentes regimes de luz e meios de cultura, observou-se um efeito significativo do meio de soja (8×10^3 conídios/ml) no regime alternado, sendo o menos indicado o de folhas de feijão (3×10^3 conídios/ml). No que se refere ao regime de luz claro e escuro contínuo, todos os seis meios de cultura utilizados, comportaram-se de maneira análoga com relação a esporulação de *C. cruenta* (Figura 2).

Del Peloso *et al.* (1989) observaram que o melhor crescimento micelial e esporulação de *C. coffeicola* foi obtido no meio de cultura suco de vegetais + PANVIT-M nos regimes de luz contínua ou alternado. Verificaram que a maior esporulação foi aos sete dias de incubação, havendo uma redução substancial aos 14 dias. Resultado semelhante

foi obtido por Silva *et al.* (1988) que trabalhando com *C. caribae* e *C. henningsii* obtiveram a máxima esporulação dos patógenos no sexto e sétimo dias de cultivo, na maioria dos meios de cultura utilizados. Dessa forma poderia justificar a baixa esporulação de *C. cruenta* obtida no presente trabalho, uma vez que esta foi avaliada aos 14 dias de incubação nos diferentes regimes de luz, embora tenha-se utilizado outros meios de cultura, demonstrando que não ocorreu um meio de cultura nem regime de luz, indicando como o melhor para o crescimento micelial, enquanto que para esporulação, dentro das condições em que foi conduzida esta pesquisa, o meio de soja no regime de luz alternado proporcionou a melhor esporulação, já no caso de *C. vanderysti* a melhor esporulação foi conseguida no meio BDA e folhas de cenoura-ágar aos sete e 14 dias, obtendo esporulação abundante apenas sobre as lesões no hospedeiro, ressaltando a dificuldade de se conseguir um meio ideal a esporulação deste gênero de fungo.

ABSTRACT

It was evaluate the growth and sporulation of *Cercospora cruenta*, isolated of lesions on cowpea leaves, at six different culture media (oat, PDA, carrot, leaves of bean, corn and soybean) and three light conditions: 12h light - 12h dark, continuous light, continuous darkness). agar discs with fungi structures was put at center of Petri dishes with the differents substracts. it was incubated at 25±2°C, under the three light conditions. The evaluation of the micelial growth was made daily, through the measurement of the colony diameter, and fifteen days after, the sporulation was evaluated, through the counting the number of spores. The carrot, leaves bean and soybean media, under alternated light condition, were the best to promote the growth of *C. cruenta*. The sporulation was best when the fungi was

cultivated in soybean media, under alternated light condition.

Key-words: Metodology, *Cercospora cruenta*, Cowpea

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ALDERMAN, S. C.; BENTE, M. K. Influence of temperature, lesion water potencial, and cyclic wet-dry periods on sporulation of *Cercospora arachidicola* on peanut. *Phytopathology*, Lancaster, v. 77, n. 5, p. 960-963, 1987.
02. ASMUS, G. L.; DHINGRA, O. D. Isolation, cultivation and sporulation of *Cercospora vanderysti*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 8, n. 2, p. 305-310, 1983.
03. BRUEHL, G. W.; MACHTMES, R. Production of *Pseudocercospora herpotrichoides* spores. *Plant Disease*, St. Paul, v. 69, p. 862-863, 1985.
04. DEL PELOSO, M. C.; FERNANDES, C. D.; FILGUEIRAS, A.T.; *et al.* Esporulação de *Cercospora coffeicola* em diferentes meios de cultura. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 14, p. 41-44, 1989.
05. LILLY, V. G.; BARNETT, H. L. Growth. In: LILLY, V. G.; BARNETT, H. L. (Ed.). *Physiology of the fungi*. New York: McGraw Hill, 1951.
06. SILVA, M. F.; CAVALCANTI, M. A.; POROCA, D. M. *et al.* Cultivo e esporulação de *Cercospora caribae* e *C. henningsii*, agentes causais de manchas foliares em mandioca. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 13, p. 54-58, 01988.
07. SINGH, S. R.; RACHIE, K. O. *Cowpea research production and utilization*. New York, John Wiley and Sons, 1985. 459p.
08. WILLIAMS, R. J. Diseases of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.)Walp.) in Nigeria. *PANS*, v. 21, n. 3, p. 263-267, 1975.