

Efeito de meios de cultura e qualidades de luz sobre o crescimento micelial e esporulação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*

Ailton REIS¹, Rita de Cássia Souza DIAS², Maria MENEZES³

Estudou-se o efeito dos meios de cultura batata dextrose ágar (BDA), cenoura dextrose ágar (CDA) e aveia dextrose ágar (ADA) e das luzes verde, azul, vermelha e branca sobre o crescimento micelial e esporulação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Após sete dias de incubação, constatou-se maior crescimento micelial em BDA sob luz verde. Maior esporulação também foi obtida em BDA, porém sob luz vermelha. Os resultados evidenciaram que tanto os meios de cultura como as luzes testadas influenciaram significativamente o crescimento micelial do fungo. A esporulação possivelmente sofreu pouco efeito do tipo de luz, enquanto que o meio de cultura provavelmente foi o fator determinante neste parâmetro.

Palavras-chave: *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, crescimento micelial, esporulação, feijão - doença, fungo patogênico, Fitossanidade, fungo - crescimento micelial.

INTRODUÇÃO

O feijoeiro está sujeito a um grande número de doenças que podem constituir fatores limitantes à sua produção. Dentre as principais doenças pode-se citar a murcha ou amarelecimento, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* Kendrick & Snider (Kimati, 1980; Hagedorne, 1991).

A espécie *F. oxysporum* está descrita como um fungo pertencente a divisão Amastigomycota, subdivisão Deuteromycotina, classe-forma Deuteromycetes, ordem Moniliales e família Tuberculariaceae (Alexopoulos e Mins, 1979). Em feijoeiro, este patógeno invade os tecidos de xilema do caule, pedúnculos e pecíolos, causando-lhes um escurecimento. Os sintomas externos consistem em um progressivo amarelecimento e murcha das folhas inferiores, podendo afetar as folhas superiores, posteriormente (Hagedorn, 1991; Kraft, Burke e Haglund, 1985).

O crescimento e esporulação de um fungo são influenciados por fatores ambientais e nutricionais tais como luminosidade, umidade, aeração, concentração hidrogeniônica (PH), potencial solúvel do meio, fontes de carbono e nitrogênio, relação carbono/nitrogênio (C/N), dentre outros (Cochrane, 1958). A nutrição de microrganismos têm recebido considerável atenção como uma ferramenta na demonstração dos elementos biologicamente essenciais. Estudos dos patógenos têm sido utilizados para determinar a resposta dos

mesmos à variação química do ambiente. Desta maneira, foram delineadas informações sobre o efeito de nutrientes específicos ao crescimento, virulência e sobrevivência dos patógenos na biosfera (Woltz e Jones, 1981).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência de três meios semi-sintéticos e quatro qualidades de luz no crescimento micelial e esporulação de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

MATERIAL E MÉTODOS

Microrganismo

Utilizou-se um isolado de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, obtido de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), da cultivar Bico de Ouro, apresentando sintomas característicos de murcha fusariana, proveniente de Petrolina - PE.

Determinação do Crescimento Micelial

De uma cultura pura do fitopatógeno, procedeu-se a remoção de pequenos fragmentos de meio (aproximadamente 3mm de diâmetro) e transferiu-se para o centro de placas de Petri, contendo os meios de BDA (batata-dextrose-ágar), ADA (aveia-dextrose-ágar) e CDA (cenoura-dextrose-ágar).

As culturas foram postas para incubar sob lâmpada fluorescente Ge de 40 W em regime de 12 h de claro alternado com 12 h de

¹ Bolsista de DCR do CNPq

² Pesquisadora do CPATSA/EMBRAPA

³ Prof. Adjunto do Depto. de Agronomia da UFRPE

escuro. As placas foram envolvidas em papel celofane azul, o qual permitia a passagem de 2000 lux, verde (3700 lux) e vermelho (1000 lux), ficando um tratamento exposto à luz branca (1500 lux). A temperatura na sala de incubação durante o período deste experimento foi de 25±2°C.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 4 x 3, com três repetições. A avaliação foi realizada diariamente através da medição do crescimento micelial em dois sentidos diametralmente opostos, com régua milimetrada, até que o fungo atingisse o diâmetro completo da placa em alguma repetição de algum dos meios.

Com os dados obtidos construiu-se as curvas de crescimento do fungo para cada substrato empregado.

Determinação da Esporulação

Após a última leitura do crescimento micelial, foi estimada a produção de conídios (macro e microconídios) do fungo, com auxílio de uma câmara de Neubauer. As suspensões foram preparadas pela adição de 20ml de ADE a cada placa contendo o crescimento do patógeno. Com auxílio de escova de cerdas

macias, raspou-se a superfície das colônias e filtrou-se em gaze de camada dupla esterilizada para frascos Erlenmeyer. Adicionou-se à água utilizada nas suspensões o espalhante adesivo Tween 80 na proporção de uma gota para 100ml de ADE.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os fatores que afetam a fisiologia de um microrganismo estão a disponibilidade de elementos essenciais e a luz (Menten e Marques, 1979). Os resultados do presente trabalho mostram que houve variação no comportamento de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* em relação ao crescimento micelial e esporulação, quando cultivados em diferentes meios de cultura e luminosidade.

Em termos gerais, observou-se um melhor crescimento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* no meio BDA (87,4mm), o qual diferiu significativamente de CDA (84,5mm) e ADA (79,5mm). Menor crescimento micelial ocorreu no meio ADA (Tabela 1). Do mesmo modo, melhor esporulação ocorreu em BDA (4,3 x 10⁶ con/ml) diferindo estatisticamente dos demais meios. O meio ADA também foi o menos eficiente na esporulação do fungo (2,3

x 10⁶ con./ml) (Tabela 2). Em meio BDA o fungo completou o diâmetro da placa (90mm) em apenas 6 dias de incubação enquanto em CDA e ADA isto aconteceu no sétimo e oitavo dias, respectivamente (Figura 1). Estes resultados concordam com Barnett (1972), o qual afirma que, em geral, a produção de estruturas de frutificação e esporos ocorre no mesmo meio que o crescimento micelial. O que demonstra haver poucas evidências sobre a necessidade de um nutriente específico que promova a esporulação, sendo que o tradicional meio de BDA é satisfatório para desenvolvimento e esporulação de muitos patógenos de plantas.

TABELA 1 - Crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* nos meios de cultura batata dextrose ágar (BDA), cenoura dextrose ágar (CDA) e aveia dextrose ágar (ADA), sob diferentes qualidades de luz.

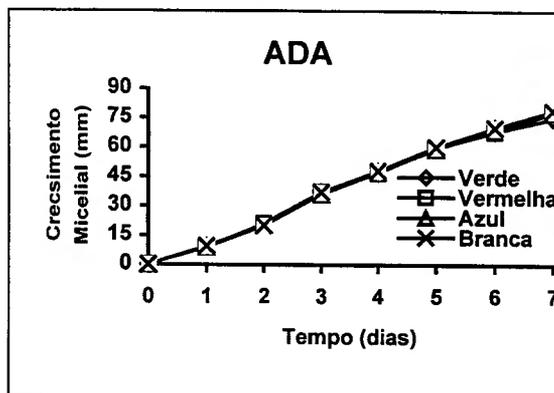
	Meios de Cultura				Média 1
	BDA	CDA	ADA		
Verde	88,3 ² a A	87,0 a A	77,3 a B	84,2 a	
Azul	88,0 a A	82,8 a B	76,5 a C	83,4 a	
Branco	87,2 a A	84,5 a A	78,5 a B	82,4 ab	
Vermelho	86,0 a A	83,5 a A	71,3 b B	80,3 b	
Média ³	87,4 A	84,5 B	75,9 C		

¹Médias de nove repetições.

²Médias de três repetições.

³Médias de 12 repetições.

Médias seguidas por letras diferentes, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.



Com relação as qualidades de luz, o melhor crescimento micelial foi verificado na luz verde o qual não diferiu estatisticamente da azul e da branca. Menor crescimento foi verificado na luz vermelho. A interação da luz verde com o meio de cultura BDA determinou um crescimento levemente superior às demais

combinações, apesar de não diferir significativamente das mesmas. O pior crescimento micelial do fungo foi observado na interação ADA x luz vermelha (Tabela 1). No tocante a esporulação do fitopatógeno, não se observou efeito positivo na produção de conídios nos meios de cultura CDA e ADA, após 7 dias de incubação. No entanto, a luz vermelha em BDA ($7,3 \times 10^6$ con./ml) proporcionou a melhor esporulação, sendo superior às luzes verde, branca e azul em 48,77%, 45,34% e 42,47% respectivamente (Tabela 2).

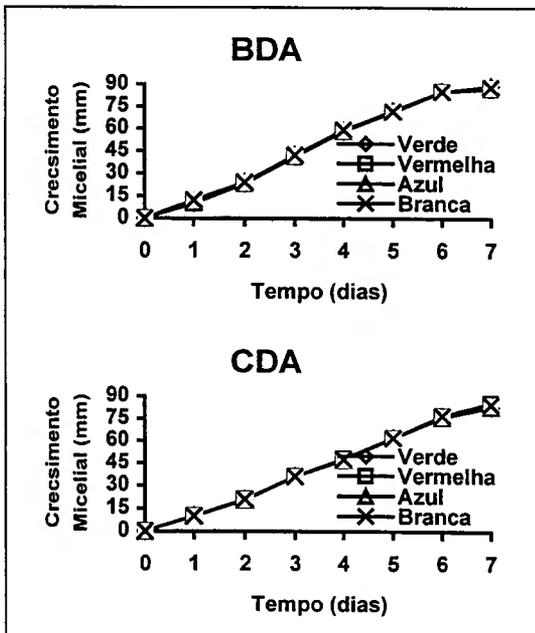


FIGURA 1. Curvas de crescimento micelial (mm) de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoly* nos meios de cultura aveia-dextrose-ágar (ADA), batata-dextrose-ágar (BDA) e cenoura-dextrose-ágar (CDA), sob diferentes qualidades de luz (verde, vermelha, azul e

Detectou-se diferença entre os diversos tipos de luz no crescimento micelial e esporulação do fitopatógeno. Houve uma correlação positiva entre a intensidade de luz e o crescimento micelial e uma correlação negativa para a esporulação, a luz verde que era a mais intensa (3.700 lux), foi a que propiciou maiores taxas de crescimento micelial enquanto que a luz vermelha (1.000lux) propiciou maior esporulação. Isto evidencia que o fator luz em *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoly* têm influência determinante no crescimento. O resultado concorda com afirmação de Minussi et al. (1977), o qual diz, que a luz, através de sua qualidade e

intensidade afeta a taxa de crescimento e indução da formação de estruturas reprodutivas. Ainda, segundo Cochrane (1958), o efeito da luz é exercido na célula fúngica e não no meio de cultura e este efeito pode ser estimulante ou inibitório. (branca).

TABELA 2. Esporulação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoly* nos meios de cultura batata dextrose ágar (BDA), cenoura dextrose ágar (CDA) e aveia dextrose ágar (ADA), sob diferentes qualidades de luz, em conídios/ml $\times 10^6$

	Meios de Cultura			
	BDA	CDA	ADA	Média 1
Vermelho	7,3 ^{2a} A	2,7 a B	2,4 a B	4,1 a
Verde	3,6 b A	2,8 a A	2,3 a A	2,9 a
Azul	3,1 b A	2,9 a A	2,3 a A	2,8 a
Branco	3,3 b A	2,6 a A	2,3 a B	2,7 a
Média ³	4,3 A	2,8 B	2,3 C	

¹Médias de 9 repetições.

²Médias de três repetições.

³Médias de 12 repetições.

Médias seguidas por letras diferentes, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

O patógeno apresentou crescimento e esporulação abundante em BDA. Isto possivelmente, demonstra uma relação diretamente proporcional, neste patógeno entre crescimento micelial e esporulação, quando as condições nutricionais são as mesmas. Ungaro e Azevedo (1984) afirmaram que a esporulação está ligada às condições de nutrição e ambiente adequados.

Os meios CDA e ADA, que se mostraram deficientes em relação ao crescimento micelial e esporulação, induziram a produção de alta porcentagem de macroconídios e clamidosporos. Isto sugere uma maior produção dessas estruturas com relação aos microconídios, em termos percentuais, quando este fungo é cultivado em meio com limitação de certos nutrientes. Estes resultados estão parcialmente de acordo com os resultados de Ribeiro e Ferraz (1984), que obtiveram uma alta porcentagem de macroconídios num meio de pouco crescimento micelial, porém de alta produção de esporos. Neste sentido, Lilly e Barnett (1951); Cochrane (1958) e Griffing (1994) são de opinião que nem sempre, um meio de cultura ótimo para o crescimento exerce o mesmo efeito sobre a esporulação e vice-versa.

A melhor esporulação foi verificada na luz vermelha, que é a de menor intensidade

(1.000 lux), sendo este resultado inversamente proporcional ao obtido no crescimento micelial para este tipo de luz. Este resultado indica que, provavelmente, em *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* a esporulação tem relação inversa com a intensidade luminosa.

Os resultados evidenciaram que tanto os meios de cultura como os tipos de luzes influenciaram significativamente no crescimento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, principalmente os meios. A esporulação sofreu pouca efeito do tipo de luz, enquanto que o meio de cultura foi o fator determinante neste parâmetro.

ABSTRACT

The culture media potato dextrose agar (PDA), carrot dextrose agar (CDA) and oat dextrose agar (ODA) and the green, blue, red and white lights were studied in relation to mycelial growth and sporulation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. After seven days of incubation, PDA showed the best mycelial growth under green light. The best sporulation was in PDA under red light. The results evidenced that as the culture medias as the light influenced significantly the mycelial growth. The sporulation likely had little effect of light, while the culture media was the principal factor influencing this parameter.

Key-Words: *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, mycelial growth, sporulation.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ALEXOPOULUS, C. J. ; MINS, C. W. *Introductory mycology*. 3-ed. New York: John Wiley , 1979. 632 p.
- 2 BARNETT, H. L. *Fungus Physiology Research at the West Virginia agricultural and Forest Experiment Station, 1922-1982*. Morgantown: West Virginia University, 1972. 113 p.
- 3 COCHRANE, V. W. *Physiology of fungus*. New York: John Wiley , 1958. 438 p.

- 4 GRIFFIN, D. H. *Fungal physiology*. 2. ed. New York: John Wiley, 1994.
- 5 HAGEDORN, D. J. Fusarium yellows. In: HALL, R. *Compendium of bean diseases*. St. Paul: APS PRESS, 1991. p. 20.
- 6 LILLY, V. G. ; BARNETT, H. L. *Physiology of the fungi*. New York : McGraw-Hill Book Company, 1951. 464 p.
- 7 KIMATI, H. Doenças do feijoeiro - *Phaseolus vulgaris* L. In: GALLI, F. (Coord.). *Manual de fitopatologia*. São Paulo : Agronômica Ceres, 1980. v. 2, p. 297-318.
- 8 KRAFT, J. M. ; BURKE, D. W. ; HAGLUND, W. A. *Fusarium diseases of beans, peas and lentils*. In: NELSON, P. E. ; TOUSSOUN, T. A. ; COOK, R. J. *Fusarium: diseases, biology and taxonomy*. Pennsylvania: The Pennsylvania State University Press, 1981. p. 142-156.
- 9 MENTEN, J. O. M. ; MARQUES, L. A. P. Influência do inóculo, meio de cultura e regime de luz no desenvolvimento micelial e esporulação de *Mycosphaerella fragariae* (Tul.) Lind. (*Ramularia tulasnei* Sacc.). *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 4, n. 1, p. 63-71, 1979.
- 10 MINUSSI, E. ; MACHADO, C. G. ; MENTEN, J. O. M.; et al. Efeitos de diferentes regimes de luz na esporulação de *Stemphylium solani* Weber em meio de cultura. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 2, n. 2, p. 167-171, 1979.
- 11 RIBEIRO, C. A. G. ; FERRAZ, S. Resistência varietal de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 9, n. 1, p. 37-44, 1984.
- 12 UNGARO, M. R. G. ; AZEVEDO, J. L. Crescimento e esporulação de *Alternaria alternata* em diferentes condições de cultivo. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 11, n. 1, p. 75-82, 1984.
- 13 WOLTZ, S. S. ; JONES, J. P. Nutritional requeriments of *Fusarium oxysporum*: Basis for a disease. In: NELSON, P. E. ; TOUSSOUN, T. A. ; COOK, R. J. *Fusarium: diseases, biology and taxonomy*. Pensilvania : The Pennsylvania State University Press, 1981. p. 340-350.