

Produção de escleródios de *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum* em algodão hidrofílico e papel de filtro

Luisa Achieme¹
João Batista Tavares da Silva²
Sueli Corrêa Marques de Mello³
Magno Rodrigues de Carvalho Filho⁴

Introdução

Os fungos *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum* possuem grande capacidade de permanência no solo e ampla gama de hospedeiros no reino vegetal. A sobrevivência desses fitopatógenos é realizada, principalmente, por meio de estruturas de resistência que ocorrem na ausência de hospedeiros e/ou em condições climáticas desfavoráveis, chamadas de escleródios, podendo esses fungos permanecerem no solo por mais de cinco anos (BARRETO, 1997; DELGADO et al., 2007). Os escleródios desempenham papel muito importante no ciclo de vida de *S. sclerotiorum*, visto que são precursores dos apotécios, onde são formados os ascósporos (COSTA e COSTA, 2006). Ambos os fungos são causadores de diversas doenças em diferentes culturas, como mofo branco, murchas das plantas, tombamento das plantas, podridão de raízes, escurecimento da região do colo da planta, etc. Esses fungos podem atacar plantas em todos os seus estádios, comprometendo a absorção de água e nutrientes e prejudicando o desenvolvimento delas (AGRIOS, 1997).

O fungo *S. sclerotiorum* pode causar doença em mais de 200 gêneros de plantas, abrangendo 408 espécies, compreendendo desde culturas de alto potencial econômico a plantas daninhas (DELGADO et al., 2007). O *S. rolfsii* apresenta uma gama de hospedeiros que abrange aproximadamente 500 espécies botânicas, além de ampla distribuição geográfica, predominantemente nas zonas tropical e subtropical (PUNJA, 1985). A busca de meios de culturas de baixo custo e eficientes para induzir a produção de escleródios é de grande importância para estudos dos patógenos (SERRA e SILVA, 2005).

No presente trabalho, objetivou-se produzir estruturas de resistência dos fungos fitopatogênicos *S. rolfsii* e *S. sclerotiorum* utilizando algodão hidrofílico e papel de filtro.

Material e Métodos

O ensaio foi conduzido utilizando-se os fitopatógenos *S. rolfsii* e *S. sclerotiorum*, provenientes da coleção da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, que foram isolados de plantas de feijão infectados

¹ Estudante de Biologia, Centro Universitário de Brasília – UnB. Brasília – DF.

² Biólogo, DSc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília – DF. Email: jtavares@cenargen.embrapa.br

³ Eng. Agrônoma, DSc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília – DF. E-mail: smello@cenargen.embrapa.br

⁴ Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília – UnB. Brasília – DF.

em área de Cerrado. Os isolados foram cultivados em meio BDA. Foram preparadas suspensões utilizando-se nutrientes como aveia (10 g de aveia + 90 mL de água); fubá de milho (10 g de fubá + 90 mL de água); creme de arroz (10 g de creme de arroz + 90 mL de água); caldo de batata, obtido da fervura de 20 g de batata em 80 mL de água; e caldo de arroz, obtido da fervura de 20 g de arroz em 80 mL de água. Dez mililitros de cada suspensão foram inoculados em placas de Petri contendo 25 g de algodão e 5 mL em papel de filtro. Como testemunha, ambos os suportes foram embebidos somente com água. Em seguida, discos de culturas de 3 mm dos fitopatógenos foram inoculados nas placas e incubados a 25°C em BOD, com fotoperíodo de 12 horas, durante 15 dias, tempo necessário para a formação de escleródios (MENEZES, 1987). Após esse tempo, os escleródios formados foram contados e armazenados em geladeira.

Para avaliar o percentual de germinação, os escleródios foram submetidos ao processo de assepsia em peneira de chá com alça dupla e imersos na seguinte ordem: 1) álcool 70%; 2) água destilada; 3) água sanitária 20%; e 4) água destilada, durante 30 segundos em cada passo. Ao final desse processo, os escleródios foram colocados na superfície de meio BDA, sendo que cada placa recebeu de cinco a vinte escleródios. As avaliações foram feitas diariamente até que todos os escleródios germinassem.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa de estatística Sisvar (FERREIRA, 2000).

Resultados e Discussão

De acordo com os resultados obtidos, quando se utilizou como suporte o algodão hidrofílico, a suspensão com aveia foi a responsável pela maior produção de escleródios de *S. rolfsii*, seguida dos substratos creme de arroz, fubá de milho e caldo de batata (Tabela 1). Utilizando-se o suporte papel de filtro, o substrato fubá de milho, seguido de aveia e caldo de batata, foram os principais produtores de escleródios. Já para o fitopatógeno *S. sclerotiorum*, o suporte de algodão embebido com a suspensão com creme de arroz foi o responsável pela maior produção de escleródios,

seguido de aveia e fubá de milho. Para o suporte papel de filtro, o substrato creme de arroz produziu o maior número de escleródios, seguido de fubá de milho e aveia. Quando comparado ao meio BDA, geralmente utilizado para a produção de escleródios, o substrato aveia foi o que apresentou maior produção de escleródios de *S. rolfsii*, enquanto para *S. sclerotiorum* os resultados foram melhores para o substrato creme de arroz, tanto em suportes com algodão hidrofílico quanto em papel de filtro (Tabela 1).

Tabela 1. Número de escleródios de fitopatógenos produzidos em algodão hidrofílico e papel de filtro embebidos em diferentes substratos.

Substrato	Produção de escleródios			
	<i>Sclerotium rolfsii</i>		<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	
	Algodão	Papel	Algodão	Papel
Água (test.)	0 ^c	23 ^d	0 ^d	0 ^d
Aveia	775 ^a	432 ^b	20 ^b	7 ^c
Caldo de arroz	99 ^c	76 ^d	7 ^c	0 ^d
Caldo de batata	206 ^b	269 ^c	0 ^d	7 ^c
Creme de arroz	343 ^b	173 ^c	28 ^a	21 ^a
Fubá de milho	222 ^b	619 ^a	13 ^b	9 ^b
BDA	278 ^b	278 ^c	15 ^b	15 ^b
C.V.	28,31	27,40	26,99	29,91

Quanto à germinação dos escleródios produzidos após 72 horas, 100% de *S. rolfsii* originários de todos os substratos e suportes germinaram (Figura 1). Já para *S. sclerotiorum*, somente os escleródios produzidos e originários de suspensões de caldo de batata, creme de arroz e fubá de milho, tendo como suporte o papel de filtro, germinaram 100%, enquanto que os escleródios produzidos no suporte algodão só apresentaram 100% de germinação quando produzidos em caldo de arroz (Figura 2). Mesmo para o meio padrão BDA, a germinação de escleródios foi baixa, em torno de 10%. No caso de *S. sclerotiorum*, pode ter havido interferência da desinfestação de seus escleródios.

Foto: João Batista Tavares da Silva



Figura 1. Colônias de *S. rolfsii* em meio de cultura BDA, originadas a partir de escleródios do fungo produzidos em suspensão de aveia, tendo como suporte o papel de filtro.

Foto: João Batista Tavares da Silva

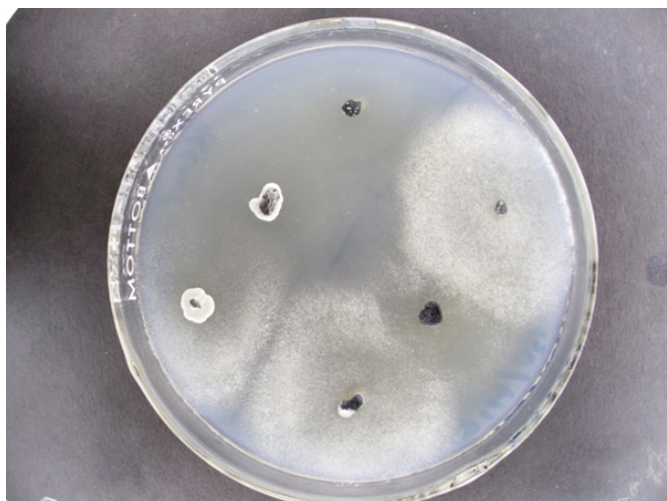


Figura 2. Colônias de *S. sclerotiorum* em meio de cultura BDA, originadas a partir de escleródios do fungo produzidos em suspensão de creme de arroz, tendo como suporte o algodão hidrofílico.

Os resultados mostraram que pode-se utilizar alternativas simples e menos dispendiosas para a produção de escleródios de fitopatógenos. Vários meios para a produção de estruturas de resistência têm sido mostrados na literatura (BUENO et al., 2007; COSTA e COSTA, 2006; SERRA e SILVA, 2005). Segundo Costa e Costa (2006), essas pesquisas prescindirão da necessidade de se utilizar plantas hospedeiras e de se encontrar áreas naturalmente infestadas.

Novos estudos serão realizados para avaliar a utilização dos suportes algodão hidrofílico e papel de filtro em estudos de infecção de fitopatógenos em sementes e plântulas de feijão.

Referências Bibliográficas

- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 4. ed. San Diego: Academic Press. 1997. 635p.
- BARRETO, M. Doenças do amendoim. In: KIMATI, H.; AMORIM, A.; BERGAMIN FILHO, L. E. A.; CAMARGO, J. A. M. R. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, p. 65-77.
- BOLAND, G. J.; HALL, R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ontário, CA, v. 16, p. 93-108, 1994.
- BUENO, C. J.; AMBRÓSIO, M. M. de Q.; SOUZA, N. L. Produção e avaliação da sobrevivência de estruturas de resistência de fungos fitopatogênicos habitantes do solo. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, SP, v. 33, n. 1, p. 47-55, 2007.
- COSTA, R. C.; COSTA, J. L. da S. Influência do solo e de substratos para produção de escleródios na germinação carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, GO, v. 36, n. 2, p. 83-87, 2006.
- DELGADO, G. V.; MARTINS, I.; MENÊZES, J. E.; MACEDO, M. A.; MELLO, S. C. M. **Inibição do crescimento de *Sclerotinia sclerotiorum* por *Trichoderma* spp. in vitro**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 214).
- DOMINGUES, R. J.; SOUZA, J. D. F. de; TÖFOLI, J. G.; MATHEUS, D. R. Ação "*in vitro*" de extratos vegetais sobre *Colletotrichum acutatum*, *Alternaria solani* e *Sclerotium rolfsii*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, n. 4, p. 643-649, 2009.
- FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., São Carlos. **Anais...** São Carlos, SP: UFSCar, 2000. p. 255-258.
- MENEZES, J. R. Testes de sanidade de sementes de feijão. In: SOAVE, J.; WETZEL, M. M. V. S. (Ed.). **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. Cap. 18, p. 395-405.

PARISI, J. J. D.; PATRÍCIO, F. R. A.; OLIVEIRA, S. H. F. Método do rolo de papel toalha modificado para a detecção de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, SP, v. 32, n. 3, p. 288-290, 2006.

PUNJA, Z. K. The biology, ecology and control of *S. rolfsii*. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, US, v. 23, p. 97-127, 1985.

SERRA, I. M. R. S.; SILVA, G. S. Caracterização biológica e fisiológica de isolados de *Sclerotium rolfsii* obtidos de pimentão no estado do Maranhão. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 30, p. 61-66, 2005.

Comunicado Técnico 194

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Endereço: Parque Estação Biológica (PqEB) - Avenida W5 Norte; Caixa Postal 02372 - Brasília, DF - Brasil; CEP: 70770-900
Fone: (61) 3448-4700
Fax: (61) 3340-3624
E-mail: sac@cenargen.embrapa.br
1ª edição
Publicação *on line* (2009)

Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento



Comitê Local de Publicações

Presidente: Lúcio Brunale.
Secretária-Executiva: Lígia Sardinha Fortes.
Membros: José Roberto de Alencar Moreira, Diva Maria de Alencar Dusi, Regina Maria Dechechi G. Carneiro, Samuel Rezende Paiva e Jonny Everson Scherwinski Pereira.
Membros suplentes: João Batista Tavares da Silva e Margot Alves Nunes Dode.
Normalização bibliográfica: Rosamires Rocha Galvão.
Revisão de texto: José Cesamildo Cruz Magalhães.
Editoração eletrônica: Cíntia Pereira da Silva.

Expediente