

Crescimento micelial e esporulação de *Alternaria alternata* sob diferentes regimes de temperatura

Paulo Henrique Pereira Costa Muniz^{1*}(IC), Gustavo Henrique Silva Peixoto² (PG), Mariany Dalila Milan³ (PG), Wanderson Silva dos Santos⁴ (IC), Daniel Diego Costa Carvalho⁴ (PQ)

¹Graduando em Agronomia e Bolsista PIBIC/CNPq, Universidade Estadual de Goiás, Ipameri. ²Pós-graduando em Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília-DF. ³Pós-graduanda em Produção Vegetal, Universidade Estadual de Goiás, Ipameri. ⁴Graduando em Engenharia Florestal, Universidade Estadual de Goiás, Ipameri. ⁵Professor Doutor em Fitopatologia, Universidade Estadual de Goiás, Ipameri. *paulohenrique.muniz1@gmail.com

Resumo: O tomateiro constitui umas das hortaliças mais cultivadas em todo mundo, contudo, apresenta alta susceptibilidade à diversos patógenos. A mancha de alternaria ou pinta-preta é um dos principais problemas fitossanitários mais frequentes na cultura sendo constatada em condições de alta umidade e temperatura, que propiciam bom desenvolvimento do patógeno. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de diferentes regimes de temperatura no crescimento micelial e esporulação de *Alternaria alternata* na ausência de luminosidade. Foram utilizados quatro isolados obtidos a partir de lesões de folha e fruto de tomateiro, cultivados *in vitro* em meio Batata Dextrose Ágar (BDA) e pertencentes ao banco de isolados da Universidade Estadual de Goiás, Câmpus Ipameri. Placas de Petri com meio de cultura BDA, contendo discos das colônias, foram mantidas a 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C e 35°C, na ausência de luz. Foram avaliados os diâmetros das colônias aos (4,6,8 e 10 dias após a incubação. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições para cada isolado e os dados foram submetidos à análise de variância, regressão e ao teste Scott-Knott ($P < 0,05$). Os diferentes regimes de temperatura interferiu significativamente no crescimento micelial dos isolados. A temperatura de 30°C proporcionou o maior crescimento micelial do patógeno e à temperatura de 25°C observou-se maior esporulação.

Palavras-chave: Olericultura. Alternariose. *Solanum lycopersicum*. Epidemiologia.

Introdução

O cultivo do tomateiro tem sido prejudicado devido à ocorrência de problemas fitossanitários. Desse modo, dentre os problemas enfrentados pela produção de tomate é a grande susceptibilidade da cultura à diversos patógenos (INOUE-NAGATA et al., 2016). Neste contexto, o desenvolvimento de estudos epidemiológicos sobre o patossistema, ou mesmo acerca da diagnose, requer inoculações artificiais, sendo necessária a produção massal de inóculo do patógeno (PINHEIRO et al., 2012). Assim, caracteres fisiológicos tais como o crescimento micelial e a esporulação *in vitro* estão entre os mais estudados (CARVALHO et al., 2008; PULZ et al., 2009). Dentre os fatores físicos, a temperatura é um dos principais fatores ambientais que influencia a taxa de crescimento micelial e



produção de esporos dos mais diversos gêneros de fitopatógenos (MARCUIZZO e NASCIMENTO, 2016).

A determinação da temperatura que proporciona o melhor desenvolvimento *in vitro* do patógeno fornece subsídios para estudos acerca da produção massal de estruturas reprodutivas do patógeno em laboratório, os quais são requeridos em diversos outros estudos epidemiológicos e que são quesitos básicos para a determinação do melhor método de controle da doença em campo (TERAMOTO et al., 2013; PEREIRA et al., 2016). Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o crescimento micelial e esporulação de *Alternaria alternata* sob diferentes regimes de temperatura.

Material e Métodos

Avaliação do crescimento micelial e esporulação de *Alternaria alternata* sob diferentes regimes de temperatura

Discos de micélio (7 mm Ø), de quatro isolados de *Alternaria alternata* (J-05-01, J-05-03, J-05-04, J-05-05), pertencentes ao banco de isolados da Universidade Estadual de Goiás, Câmpus Ipameri, foram retirados de colônia com aproximadamente dez dias de idade e transferidos para o centro de placas de Petri (85 mm Ø) contendo meio BDA. Em seguida, as placas foram mantidas em incubadoras tipo BOD nas temperaturas de 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C e 35°C na ausência de luz. O crescimento radial do micélio foi avaliado aos 4, 6, 8 e 10 dias após a incubação (DAI), a partir da média de dois diâmetros diametralmente opostos. Aos 10 DAI, um total de 10 mL de água destilada esterilizada foi adicionado em cada placa de Petri, seguido da liberação dos esporos com alça de Drigalsky. Em seguida, os esporos foram recolhidos em Becker e filtrados em gaze esterilizada. As concentrações das suspensões obtidas foram mensuradas em câmara de Neubauer, realizando-se a contagem de esporos em quatro quadrantes da câmara para cada placa (CARVALHO et al., 2008). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições.

Análises estatísticas

Os resultados relativos ao crescimento micelial sob diferentes regimes de temperatura com os isolados de *Alternaria alternata* foram submetidos à análise de

variância, à análise de regressão, visando à obtenção de modelo significativo e com alto coeficiente de determinação (r^2) para o crescimento micelial, com auxílio do programa SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2011).

Resultados e Discussão

O crescimento micelial das colônias de *Alternaria alternata* em função da temperatura, apresentou resposta até a temperatura de 30°C (Figura 1), resultando em um modelo polinomial do segundo grau negativo representativo para os quatro isolados, uma vez que os isolados não diferiram estatisticamente quanto ao crescimento micelial nas diferentes temperaturas. As curvas de crescimento micelial dos isolados já eram esperadas, pois os resultados comprovam que a temperatura ótima para proliferação de *Alternaria* sp. encontra-se em torno dos 30°C, uma vez que são consideradas ideais para ocorrência de severas epidemias (HENDGES e NOZAKI, 2017). De forma análoga, Silva e Melo (1997), observaram resultados como estes para o desenvolvimento *in vitro* de *Alternaria alternata*, à 28°C e ausência de luz.

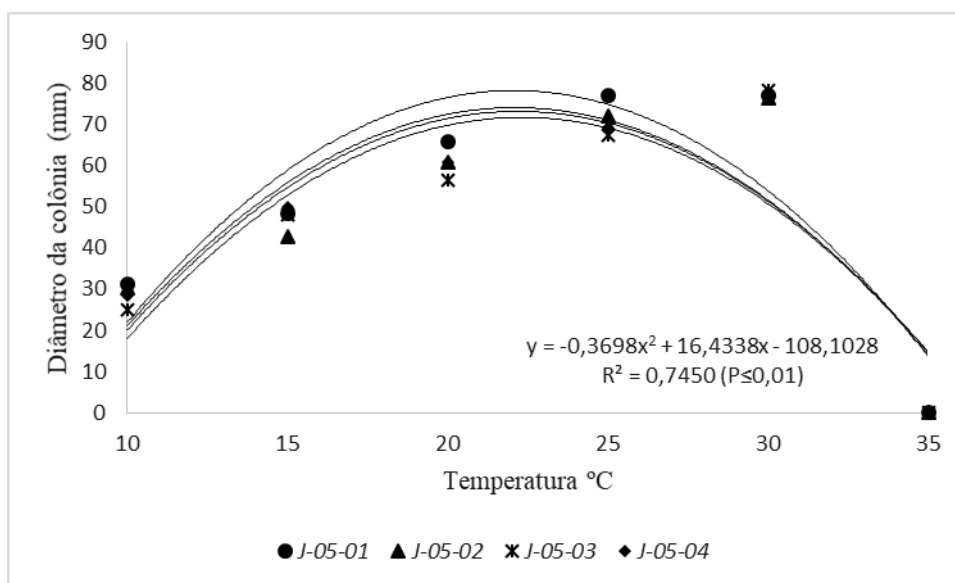


Figura 1. Crescimento micelial de *Alternaria alternata* em função das temperaturas de 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C e 35°C. Ipameri, Goiás, Brasil, 2018.

É importante salientar que o modelo de crescimento micelial apresentado na Figura 1 explica em 74,5% o efeito da temperatura no crescimento. Além disso, verificou-se que o crescimento de micelial de *Alternaria* sp. foi indiferente à luz, o



que é um evento comum ao gênero, que apresenta maior desenvolvimento nesta condição, conforme já observado por Carvalho et al. (2008). Quanto à produção de conídios, os isolados apresentaram esporulação máxima de $5,76 \times 10^5$ conídios ml^{-1} quando submetidos à temperatura de 25°C.

Segundo Pinheiro et al. (2012), a temperatura exerce alta influência no crescimento micelial e na produção de conídios de isolados de *Alternaria porri*, obtendo maior crescimento de colônia e esporulação em placas mantidas nas temperaturas de 25°C e 30°C. Em contrapartida, as colônias mantidas à temperatura de 35°C não apresentaram crescimento, demonstrando que cada fungo exige uma faixa de temperatura ideal para crescimento e esporulação.

Em trabalhos conduzidos por Pulz et al. (2009), estudando o efeito de fatores físicos sobre o crescimento e esporulação de isolados de *Alternaria dauci* e *A. solani*, verificou que o crescimento e esporulação são fortemente influenciados pelas condições físicas do meio, inferindo que a temperatura de 25°C e ausência de luz proporcionaram maior crescimento micelial e produção de conídios das espécies do gênero *Alternaria*.

Considerações Finais

1 – O fator físico temperatura influencia no crescimento micelial e esporulação de *Alternaria alternata*.

2- A temperatura de 30°C propiciou maior crescimento micelial *in vitro* do patógeno, em contrapartida, a temperatura de 25°C proporcionou maior produção de conídios.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), por uma bolsa de iniciação científica concedida.

Referências

CARVALHO, D.D.C.; ALVES, E.; BATISTA, T.R.S.; CAMARGOS, R.B.; LOPES, E.A.G.L. Comparison of methodologies for conidia production by *Alternaria alternata* from citrus. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.39, p.792-798, 2008.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.



HENDGES, C.; NOZAKI, M.H. Desenvolvimento de *Alternaria solani* em diferentes meios de cultura, fotoperíodo e temperatura. **Colloquium Agrariae**, Presidente Prudente, v.13, n.1, p.16-24, 2017.

INOUE-NAGATA, A.K.; LOPES, C.A.; REIS, A.; PEREIRA, R.B.; QUEZADO-DUVAL, A.M.; PINHEIRO, J.B.; LIMA, M.F. Doenças do tomateiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 5 ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, v.2, 2016, p.697-732.

MARCUZZO, L.L.; NASCIMENTO, A. Efeito da temperatura e do fotoperíodo na germinação *in vitro* de conídios de *Cercospora beticola*, agente etiológico da cercosporiose da beterraba. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.42, n.3, p. 276-277, 2016.

PEREIRA, F.T.; MARQUES, M.G.; CARVALHO, D.D.D.C. Produção *in vitro* de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* sob diferentes regimes de luz. **Revista Biociências**, Taubaté v.22, n.1, p. 56-60, 2016.

PINHEIRO, G.S.; ANGELOTTI, F.; COSTA, N.D.; SANTANA, C.V.S.; RODRIGUES, D.R. Impacto de alterações da temperatura sobre o crescimento e esporulação de *Alternaria porri*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.30, n.2, p.1942-1946, 2012.

PULZ, P.; MASSOLA JÚNIOR, N.S. Efeitos de meios de cultura e fatores físicos no crescimento e esporulação de *Alternaria dauci* e *A. solani*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.35, n.2, p. 121-126, 2009.

SILVA, C.M.M. S.; MELO, I.S. Caracterização de *Alternaria alternata*, degradador do fungicida carbendazim. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, n.6, p.621-626, 1997.

TERAMOTO, A.; PARISI, M.C.M.; CUNHA, M.G. Caracterização fisiológica de isolados de *Corynespora cassicola*. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.38, n.4, p.313- 322, 2013.