

## Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de esporos de *Thielaviopsis paradoxa* isolado de coqueiros em Sergipe

R.R. Costa e Carvalho<sup>1</sup>; D.R.N. Warwick<sup>2</sup>; P.E. Souza<sup>1</sup>; J. L. S. Carvalho Filho<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Lavras (UFLA), 37200-000, Lavras- MG, Brasil

<sup>2</sup>Embrapa Tabuleiros Costeiros, 49025-040, Aracaju-Se, Brasil

<sup>3</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900, Recife-Pe, Brasil

rejanercosta@yahoo.com.br

(Recebido em 25 de abril de 2011; aceito em 13 de setembro de 2011)

A resinose do coqueiro, causada pelo fungo *Thielaviopsis paradoxa*, atualmente é a doença mais agressiva da cultura no estado de Sergipe (SE). Devido à inexistência de estudos epidemiológicos sobre a doença e com o intuito de se descobrir a temperatura ideal para o desenvolvimento do patógeno, foi estudado o efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *T. paradoxa* isolado de Neópolis, SE. Todas as características avaliadas apresentaram comportamento quadrático, sendo que os valores de temperatura ótimos para as características avaliadas foram obtidos pela derivada da equação de regressão. A temperatura ótima para o crescimento micelial foi de 28,28°C, para a produção de esporos foi de 28,99°C e para a germinação de esporos foi de 28,05°C. Portanto, a temperatura que favorece o desenvolvimento do fungo é a mesma que ocorre em boa parte do ano no estado de Sergipe.

Palavras-chave: *Thielaviopsis paradoxa*, cocos nucifera, resinose

The stem bleeding of coconut caused by the fungus *Thielaviopsis paradoxa*, is currently the most aggressive disease in Sergipe. Due to inexistence of epidemiological studies about the disease and in order to find the ideal temperature for the development of the pathogen, we studied the effect of temperature on mycelial growth, production and germination of *T. paradoxa* isolated Neopolis, SE. All traits showed a quadratic and the values of temperature optima for the characteristics were obtained by the derivative of the regression equation. The optimum temperature for mycelial growth was 28.28 °C for spore production was 28.99 °C and spore germination was 28.05 °C. Therefore, the temperature that favors the development of the fungus is the same as occurs in much of the year in the state of Sergipe.

Keywords: *Thielaviopsis paradoxa*, *cocos nucifera*, stem bleeding

### 1. INTRODUÇÃO

A resinose do coqueiro ou “stem bleeding”, causada pelo fungo *Thielaviopsis paradoxa* (De Seynes) Höhn, tornou-se o principal problema na cultura do coqueiro no estado de Sergipe, devido a sua rápida disseminação e consequente queda de produção. *T. paradoxa* é a fase imperfeita ou assexual do patógeno, sendo responsável pela produção de dois tipos de esporos, os endoconídios e os clamidósporos. Em sua fase sexual ou perfeita é denominado *Ceratocystis paradoxa* (Dade) C. Moreau, (1952) (Ascomycetes, Microascales, família Ophiostomatacea), fase esta raramente encontrada na natureza e até o momento não verificado nas condições nacionais.

Dentre os principais sintomas da resinose, pode-se destacar o aparecimento de um líquido marrom-avermelhado que escorre através de rachaduras no tronco, que ao secar pode adquirir uma coloração avermelhada ou enegrecida; redução na frequência de emissão de folhas e no tamanho das mais novas; afinamento do tronco na região próximo à copa, sintoma observado com a evolução da doença; folhas amarelo-pardacentas frágeis e sujeitas à quebra [1].

Apesar de sua detecção pela primeira vez no estado de Sergipe em 2004, pouco se sabe a respeito do patossistema resinose, muito menos dos aspectos epidemiológicos da doença. Três fatores devem ocorrer, simultaneamente, para que ocorra uma epidemia de doença de planta:

patógeno virulento, hospedeiro suscetível e ambiente favorável [2]. Dessa forma, torna-se necessário estudar o patógeno, a interação patógeno-hospedeiro e as condições que predis põem a planta ao patógeno. O conhecimento de cada um destes fatores é imprescindível na definição das estratégias de controle.

As variáveis climáticas, entre elas a temperatura, exercem importância crucial tanto na infecção quanto na colonização do patógeno, constituindo a variável climática mais correlacionada com respostas biológicas [3 e 4]. Com o intuito de se descobrir a temperatura ideal para o desenvolvimento do patógeno, objetivou-se com o presente trabalho avaliar o efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *T. paradoxa*.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Tabuleiros Costeiros, em Aracaju-SE.

*T. paradoxa* foi isolado do caule e raízes secundárias de coqueiros que apresentavam os sintomas típicos de resinose, em um plantio comercial no Município de Neópolis-SE. Essas raízes foram superficialmente desinfetadas com álcool 70% durante 30 segundos e enxaguados três vezes em água destilada estéril. Em seguida, estes pedaços de tecido foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) e posteriormente incubadas à temperatura de 22°C por 7 dias. Após esse período, discos de micélio do fungo foram retirados dos bordos das colônias e transferidos para outras placas contendo meio de BDA, de onde foram realizadas culturas monospóricas.

Para a avaliação do crescimento micelial, discos de micélio com 4 mm de diâmetro das culturas monospóricas foram transferidos para placas contendo 10 mL de meio BDA (batata-dextrose-ágar) e submetidos às temperaturas de 22°, 24°, 26°, 28°, 34° e 40°C, com fotoperíodo de 12 horas em BOD. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC), com cinco repetições, sendo que cada repetição foi composta de 5 placas de Petri. As avaliações foram realizadas diariamente, através de medições do diâmetro das colônias em dois eixos ortogonais (média das duas medições diametricamente opostas), iniciando-se 24 h a partir do momento em que foi colocado o disco de micélio com os isolados no meio de cultura e sempre no mesmo horário, até que um dos tratamentos atingisse o diâmetro total da placa de Petri.

Os dados obtidos foram utilizados no cálculo do índice de velocidade de crescimento micelial, conforme a fórmula [5] adaptada por [6], sendo, portanto,  $IVCM = \sum(D-D_a)/N$ , onde, IVCM = Índice de Velocidade de Crescimento Micelial; D = diâmetro médio atual da colônia;  $D_a$  = diâmetro médio da colônia do dia anterior; N = número de dias após a inoculação.

Na avaliação da produção de esporos, para cada placa do experimento de IVCM foram adicionados 10 mL da solução água mais Tween 20 a 1%. A superfície da colônia foi raspada com auxílio da alça de Drigalski. Os esporos de cada placa foram filtrados em gazes e suspensos em 100 mL de água. Para cada suspensão de esporos, três alíquotas de 0,1 mL foram transferidas, separadamente, para uma lâmina de hemacitômetro, onde se procedeu à contagem de esporos através do microscópio óptico. Os dados médios das três contagens foram transformados em número de esporos por (cm<sup>2</sup>) de colônia, considerando-se a quantidade de conídios produzidos na área tomada pela colônia em cada placa.

Em relação à porcentagem de germinação conidial, uma alíquota de 50 µL, foi colocada em lâmina escavada para microscopia e mantida em BOD a 25°C. Após 24 horas, procedeu-se à leitura, contando-se 100 conídios por lâmina por repetição. Foram realizadas diluições, de maneira a possibilitar a germinação dos conídios. Foi considerado germinado o conídio cujo tubo germinativo apresentava 50% do seu tamanho.

As análises estatísticas foram realizadas no programa SISVAR. As variáveis significativas no teste F da análise de variância foram submetidas à análise de regressão. O ajuste do modelo de regressão foi realizado utilizando-se as repetições das variáveis estudadas. Avaliou-se o ajuste dos modelos linear, quadrático, exponencial, logístico e beta-binomial. O modelo escolhido, utilizado para plotar o gráfico, foi aquele com maior R<sup>2</sup>, menor Quadrado Médio dos Desvios e

melhor gráfico de distribuição de resíduos. Para se determinar a temperatura ótima para o crescimento micelial, produção e germinação de conídios, foi realizada a derivada de primeira ordem da equação de regressão com melhor ajuste.

Os dados de temperatura de 2009 e 2010 foram obtidos na estação meteorológica da Associação dos Concessionários do Distrito de Irrigação do Platô de Neópolis – ASCONDIR, situado em Neópolis, SE (latitude: 10°S, longitude: 37° 35'W, altitude: 200 m).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as características avaliadas apresentaram comportamento quadrático, sendo que as temperaturas ótimas para o desenvolvimento do fungo foram obtidas pela derivada das equações de regressão. O efeito da temperatura no desenvolvimento de *T. paradoxa* e seu anamorfo, *C. paradoxa* tem sido investigado ao longo dos anos para diversos patossistemas. A temperatura ótima relatada para o crescimento e proliferação de *T. paradoxa* em cana-de-açúcar foi a de 28°C [7 e 8].

No presente trabalho, o patógeno apresentou o máximo de crescimento micelial (7,03cm) na temperatura de 28,28°C (figura 1). Da mesma forma, um maior crescimento micelial de *C. paradoxa* foi obtido na temperatura de 28 °C para cana-de-açúcar [9].

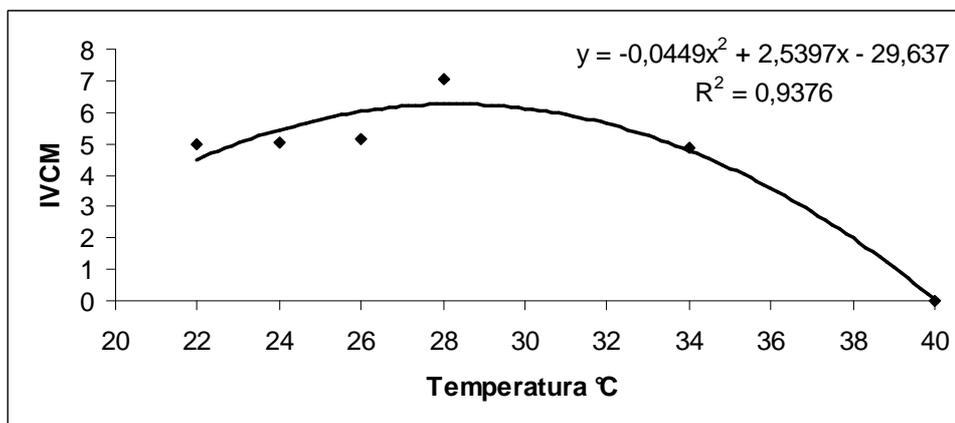


Figura 1. Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Thielaviopsis paradoxa* em relação à temperatura.

Cada fungo exige uma faixa de temperatura ideal para esporular, sendo reduzida sob baixas temperaturas e aumentada à medida que a temperatura se eleva, até atingir um ponto máximo ou o ponto ótimo para a esporulação. Neste estudo, a temperatura ótima para produção de esporos foi de 28,99°C, com uma esporulação máxima de  $327 \times 10^6$  esporos (figura 2). Na literatura, máxima esporulação foi obtida nas temperaturas entre 25°C e 28°C para *T. paradoxa* [10 e 11].

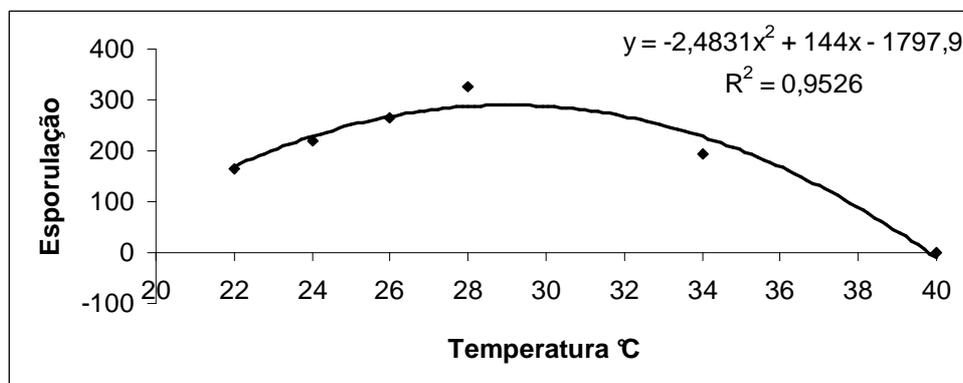


Figura 2. Produção de esporos ou esporulação ( $\times 10^6$  esporos/mL) de *Thielaviopsis paradoxa* em relação à temperatura.

A principal característica que indica a viabilidade dos esporos é a germinação e para que ela ocorra, é preciso de uma temperatura adequada e água em quantidade suficiente. Na avaliação da germinação, a temperatura ótima encontrada foi de 28,05°C, responsável por uma germinação de  $83 \times 10^6$  esporos (figura 3). Entretanto, na literatura é relatado que a temperatura ótima para germinação de conídeos e ascósporos de *T. paradoxa* está em torno de 25°C [12].

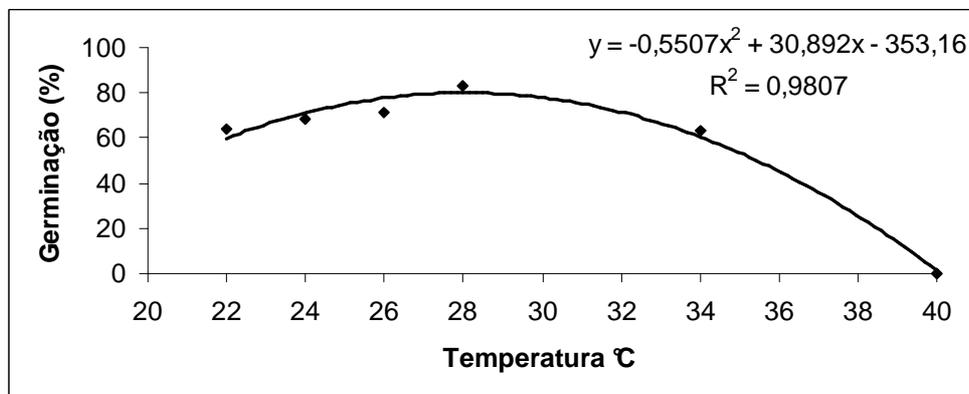


Figura 3. Porcentagem de germinação ( $\times 10^6$ ) de *Thielaviopsis paradoxa* em relação à temperatura.

A temperatura média do Platô de Neópolis fica em torno de 28°C nos meses mais quentes do ano, entre outubro e março (Figura 4), favorecendo o processo epidêmico, uma vez que a temperatura ótima para o crescimento micelial, produção e germinação de esporos de *T. paradoxa* também se situa na faixa de 28°C. O aumento da temperatura média de alguns meses de 2010 quando comparado ao de 2009, pode explicar em parte o grande avanço da doença nas áreas afetadas no ano de 2010. Entretanto, como a temperatura é apenas uma das variáveis que afetam os diferentes processos do ciclo, outros fatores devem ser estudados e esclarecidos para um melhor manejo da doença.

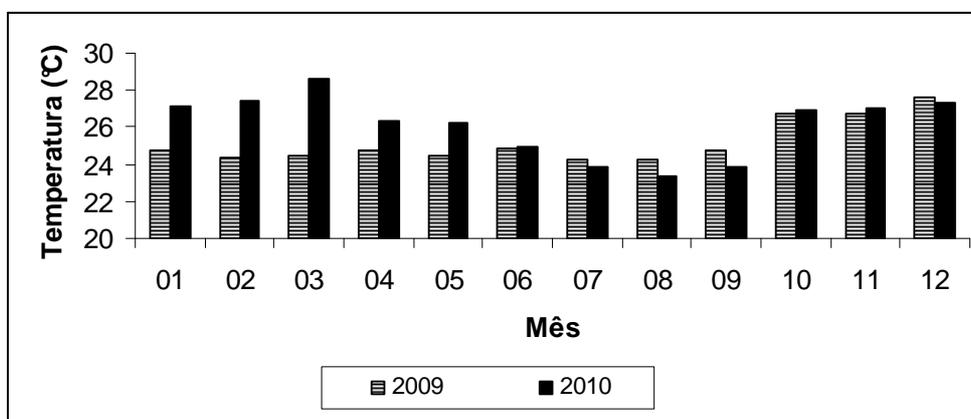


Figura 4. Temperatura média mensal de Neópolis nos anos de 2009 e 2010.

#### 4. CONCLUSÃO

A temperatura ideal para o crescimento micelial, produção e germinação de conídeos de *Thielaviopsis paradoxa* em Neópolis-SE situa em torno de 28°C.

1. WARWICK, D. R.N.; PASSOS, E.E.M. Ataque de resinose do coqueiro causada por *Thielaviopsis paradoxa* em Sergipe, Brasil. *Tropical Plant Pathology* 34(3), 175-177 (2009).
2. GÄUMANN, E. *Principles of Plant Infection*. London: Crosby Lockwood & Sons, 1950. 170p.
3. AGRIOS, G.N. *Plant Pathology*. New York: Academic Press, 2005. 803p.

4. SUTTON, J. C. Predictive value of weather variables in the epidemiology and management of foliar diseases. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 12: 305- 311 (1988).
5. MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aido in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. *Crop Science*, Madison, 2:176-177 (1962).
6. OLIVEIRA, J.A. Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativas* L.) e pimentão (*Capsicum annanum* L.). *Ciência e Prática*, Lavras, 16: 42-47 (1992).
7. CHI, C.C. A preliminary report on the study of pineapple disease of sugarcane in Taiwan. *Journal of Sugarcane Research*, 3: 71-102 (1949).
8. WISMER, C.A. Pineapple disease. In: MARTIN, J.P.; ABBOT, E.V.; HUGHES, C.G. (Ed.). *Sugarcane diseases of the world*. Amsterdam: Elsevier, 1961. p. 223-245.
9. MILANES, G., VIRELLES, P., AND HERRERA ISLA, L. Effect of temperature on the growth and pathogenic activity of *Thielaviopsis paradoxa* (de Seynes) Moreau. *Centro Agricola*, 13 (2): 24-28 (1986).
10. SASTRY, M.N.L., PATIL KULKARNI, B.G., HEGDE, R.K. AND HIREMATH, P.C. Studies on the disease caused by *Thielaviopsis* state of *Ceratocystis paradoxa* (Dade) Moreau on arecanut, coconut and sugarcane, its nutritional and physiological studies of three isolates of *Ceratocystis paradoxa*. *Mysore Journal of Agricultural Sciences*, 22: 475-478 (1988).
11. YADAHALLI, K.B.; ADIVER, S.S.; KULKARNI, S. Effect of pH, temperature and relative humidity on growth and development of *Ceratocystis paradoxa* – a causal organism of pineapple disease of sugarcane. *Karnataka Journal of Agricultural Sciences*, Karnataka, 1 (20): 159-161 (2007).
12. MANCINI, G. AND SCOPIN, J. Effect of some nutritive and environmental factors on development *In-vitro* of *Ceratocystis fimbriata*. *Revista Dipatologia Vegetata*, 17: 163-174 (1981).