

Crescimento e etiologia do agente causal da antracnose em morangueiro

Lana Paola da Silva Chidichima¹, Márcia de Holanda Nozaki¹, Camila Hendges² e
Wanderley Lulu Gaias¹

¹Pontifícia Universidade Católica do Paraná, campus Toledo, Avenida da União, 500, 85902-532, Toledo, Paraná. E-mail: lana_pchidichima@hotmail.com.

²Universidade Estadual do Oeste do Paraná, campus Marechal Candido Rodon, Rua Pernambuco, 1777, 85960-000, Marechal Candido Rondon, Paraná.

E-mail autor correspondente: lana_pchidichima@hotmail.com

Artigo enviado em 29/12/2017, aceito em 29/08/2018.

Resumo: O objetivo do presente trabalho foi estudar a etiologia do fungo *Colletotrichum acutatum*, caracterizando isolados quanto ao seu desenvolvimento em diferentes condições. Foram realizados quatro ensaios com delineamento experimental inteiramente casualizado, desenvolvidos no laboratório de Fitopatologia da PUCPR, campus Toledo. O primeiro, de meios de cultura composto pelos tratamentos: BDA, ágar + água, ágar nutriente, ágar + folhas, ágar + polpa e ágar + aveia, com quatro repetições cada. Após o período luminoso, com os tratamentos: contínua à luz, exposição alternada e escuro contínuo, com nove repetições. Em seguida, o ensaio de pH, constituído por: 4,0; 5,0; 6,0; 7,0 e 8,0 com cinco repetições. E, o ensaio de temperatura, com os tratamentos 20 °C, 25 °C e 30°C, com dez repetições. Após a solidificação do meio de cultura em cada ensaio, foram transferidos discos miceliais para a placa de Petri, mantidas em condições específicas de cada ensaio proposto e avaliados crescimento micelial e número de esporos. Isolados de *Colletotrichum acutatum* apresentaram desenvolvimento superior em meio ágar + aveia, luminosidade alternada e 25°C. O pH do meio não influenciou no crescimento. Desta forma, ao conhecer os aspectos etiológicos do fungo é possível determinar o método de controle para a doença.

Palavras-chave: *Colletotrichum acutatum*, desenvolvimento fúngico, *Fragaria x ananassa*.

Growth and etiology strawberry anthracnosis causal

Abstract : The aim of the present work was to study fungus *Colletotrichum acutatum* etiology, characterizing isolates for its development under different conditions. Four assays was developed with an entirely casualized experimental design, made in Phytopathology laboratory of PUCPR, Toledo campus. The first, of different culture media composed by the treatments: PDA, agar+water, nutrient agar, leaf+agar, pulp+agar and oat+agar, with four replicates each. After, for luminosity, with the treatments: continuous light, alternate exposure and continuous dark, com nine replicates. Followed, by pH assay, constituted by: 4,0; 5,0; 6,0; 7,0 and 8,0 with five replicates. In addition, temperature assay, with the treatments 20 °C, 25 °C and 30°C, with 10 replicates. After culture media solidification for each assay, mycelial discs were placed in Petri dishes and maintained under specific conditions for each proposed assay and mycelial growth and number of spores were evaluated. Isolates of *Colletotrichum*

acutatum presented better development on oat+agar culture media, alternate light and 25°C. The pH did not influence on growth. Therefore, knowing the etiologic aspects of the fungus is possible to determine the best control for the disease.

Key words: *Colletotrichum acutatum*, fungal development, *Fragaria x ananassa*.

Introdução

O cultivo de morangos no Brasil e no mundo se tornou uma atividade agrícola especializada, exigindo dos produtores conhecimentos técnicos de alto nível, dedicação e utilização de métodos de manejo de cultura modernos o que se faz jus o crescimento na rentabilidade da cultura nos últimos anos e, conseqüentemente o interesse de cultivo por parte dos agricultores (ANTUNES e REISSER JÚNIOR, 2007).

Atualmente o país conta com uma área plantada de aproximadamente 4000 hectares, com uma produção anual de 105 mil toneladas de frutos e com uma produtividade média de 30 ton ha⁻¹. Os estados que mais se destacam em produtividade são Minas Gerais, Rio Grande do Sul, São Paulo e Paraná, os quais fazem parte das regiões com maior demanda do produto, Sul e Sudeste (ALDRIGHI et al., 2015).

A cultura do morangueiro se defronta com alguns fatores que são considerados limitantes à produção, assim como a maioria das culturas que são exploradas de forma intensivas. Dentre eles estão, a baixa qualidade de mudas, pouca disponibilidade de cultivares resistentes, manejo inadequado, variações de condições edafoclimáticas e, pragas e doenças (SILVA et al., 2007).

Dentre os patógenos que limitam o cultivo do morangueiro destaca-se o *Colletotrichum* spp., agente causal da antracnose do morangueiro. A doença pode ser ocasionada por diferentes espécies como *C. glorioesporioides*, *C. acutatum* e *C. fragariae*. São fungos que produzem lesões e estrangulamento em

estolões, pecíolos, frutos e coroa da planta. As manchas podem ser de coloração escura ou marrom claro, podendo causar murcha e morte da planta, quando avança até a coroa da planta (FORTES, 2005).

Para o controle, recomenda-se as precauções gerais de doenças sendo as principais o uso de mudas sadias, destruição de material vegetal contaminado, uso de substrato livres de patógenos e evitar o uso de irrigação por aspersão (SIMON et al., 2005).

O patógeno tem a capacidade de causar infecções latentes dificultando a visualização de sintomas, principalmente em folhas e hastes, durante a produção de mudas (Antunes et al., 2011). Essa dificuldade de identificação por parte dos produtores, juntamente com a carência de cultivares com um bom nível de resistência, favorece a disseminação da doença em novas áreas.

Neste sentido, o estudo das características etiológicas e as condições favoráveis para a sua proliferação é de suma importância para que se possa facilitar seu controle, tendo em vista, que apesar de a literatura citar o controle químico para antracnose. No Brasil não se pode fazer uso já que não há no mercado produtos registrados para a doença (TÓFOLI e DOMINGUES, 2005).

Por fim, o presente trabalho objetivou estudar a etiologia de *Colletotrichum acutatum* causador da antracnose em morangueiro, caracterizando os isolados quanto ao seu desenvolvimento, em diferentes

meios de culturas, pHs, condições de luminosidade e temperatura.

Material e Métodos

Condução do experimento

O experimento foi implantado e conduzido no laboratório de Fitopatologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, campus Toledo (PR) no período de março à dezembro de 2016.

Para obtenção dos isolados de *Colletotrichum acutatum* folhas sintomáticas de morangueiro (*Fragaria x ananassa*) foram coletadas de cultivos domésticos na região Oeste do Paraná. O isolamento foi realizado seguindo metodologia descrita por Alfenas e Mafia (2007), em que foram retirados pequenos fragmentos dos tecidos sintomáticos com auxílio de lâmina de corte. Posteriormente, os fragmentos foram submetidos a desinfecção prévia, primeiramente, em álcool 70 % por 30 segundos e, posteriormente, em hipoclorito de sódio 1% por 1 min. Em seguida, transferiu-se de forma asséptica os fragmentos para placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), sendo armazenada em câmara B.O.D a 25°C por 7 dias.

Ensaio 1: Efeito de Diferentes meios de cultura no crescimento micelial e esporulação de Colletotrichum acutatum

Para avaliação dos diferentes meios de cultura sobre o crescimento micelial e esporulação do patógeno utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis tratamentos e quatro repetições cada.

Os tratamentos utilizados foram: (1) BDA (200 g de batata, 20 g de dextrose e 20 g ágar), (2) ágar + água (20 g de ágar), (3) ágar nutriente, (4) ágar + folhas (20 g de folhas trituradas, 25 g de dextrose e 20 g de ágar), (5) ágar + polpa (80 g de polpa) e (6) ágar + aveia (80 g de aveia, 20 g de ágar),

medidas estas para preparação de 1 L de meio de cultura.

Os meios de cultura foram devidamente autoclavados (121°C/20 min) e transferidos para placas de Petri de 9 cm de diâmetro. Após solidificação do meio, discos miceliais de aproximadamente 5 mm de diâmetro obtidos de colônias puras do fungo, confeccionados com auxílio de um vazador de metal, foram depositados no centro de cada placa.

As placas foram vedadas e mantidas em temperatura ambiente e fotoperíodo alternado (12 horas luz/12 horas escuro).

As avaliações de crescimento micelial foram realizadas diariamente (mm/dia) com auxílio de uma régua graduada de 30 cm, por meio de medições nos sentidos diametricamente opostos das placas de Petri, até que em algum dos tratamentos, a colônia completasse todo diâmetro da placa.

Para determinar o número de esporos, ao término da avaliação do crescimento micelial, preparou-se uma solução de esporos para cada tratamento. Essa solução foi obtida por meio do acréscimo de 10 mL de água deionizada esterilizada em cada placa e posterior raspagem superficial do meio contendo a colônia fúngica utilizando-se de uma espátula de metal, separando o micélio do meio de cultura para liberação dos esporos do fungo. A solução de esporos foi filtrada em gaze e transferida para um béquer de 100 mL. Em seguida, realizou-se a coleta de 1 mL desta solução, a qual foi depositada sobre a câmara de Neubauer (hemacitômetro) para a contagem do número de esporos produzidos em cada tratamento.

Ensaio 2: Efeito de diferentes regimes de luminosidade sobre o crescimento micelial e esporulação de Colletotrichum acutatum

Utilizando-se os resultados obtidos no ensaio anterior, procedeu-se a avaliação do melhor regime luminoso. Para tanto, utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado composto de três tratamentos para testar diferentes períodos de luminosidade sobre o patógeno: (1) exposição contínua à luz, (2) exposição alternada (12 horas luz/ 12 horas escuro) e (3) escuro contínuo. Cada tratamento contou com nove repetições.

O meio de cultura utilizado foi ágar + aveia (80 g de aveia, 20 g de ágar), tendo este se sobressaído aos demais no ensaio anterior. Medidas essa, preparada para 1L de meio de cultura. O meio foi autoclavado (121°C/ 20 min) e vertido em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. Após solidificação do meio, discos miceliais de aproximadamente 5 mm de diâmetro obtidos de colônias puras do fungo, confeccionados com auxílio de um vazador de metal, foram depositados no centro de cada placa, sendo essas vedadas e armazenadas em temperatura ambiente.

Para a simulação do período de escuro, as placas foram envoltas com papel alumínio e armazenadas em ambiente sem luz. Enquanto que, para o tratamento de exposição alternada a luz foram armazenadas em fotoperíodo de 12 horas luz/12 horas escuro, em bancada, e as placas com expostas a luminosidade continua permaneceram com luminosidade durante toda a condução do experimento.

O crescimento micelial foi medido diariamente (mm/dia) no sentido diametricamente oposto das placas de Petri com auxílio de uma régua graduada, até que em um dos tratamentos atingir as bordas da placa, cobrindo a área total da placa.

A contagem de esporos foi realizada auxílio da câmara de Neubauer ao termino da avaliação do crescimento micelial, como relatado anteriormente.

Ensaio 3: Influência do pH do meio de cultura sobre o crescimento micelial e esporulação de Colletotrichum acutatum

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e cinco repetições cada: (1) 4,0; (2) 5,0; (3) 6,0; (4) 7,0 e (5) 8,0.

O meio de cultura utilizado foi ágar + aveia (80 g de aveia, 20 g de ágar), tendo este se sobressaído dos demais no primeiro ensaio. Essa medida foi preparada para 1L de meio de cultura. O meio foi autoclavado (121°C/20 min) e vertidos em placas de Petri de 9 cm de diâmetro.

Após solidificação do meio, discos miceliais de aproximadamente 5 mm de diâmetro obtidos de colônias puras do fungo, confeccionados com auxílio de um vazador de metal, foram depositados no centro de cada placa, sendo essas vedadas e armazenadas em temperatura ambiente, e expostas ao período luminoso alternado, sendo este o tratamento que se sobressaiu sobre os demais no experimento anterior.

Para ajuste dos pHs foram utilizados ácido clorídrico (HCl) e hidróxido de sódio (NaOH) nas concentrações de 0,5 M e conferidos com auxílio de pHmetro.

O crescimento micelial foi medido diariamente (mm/dia) no sentido diametricamente opostos das placas de Petri com auxílio de uma régua graduada, até que em um dos tratamentos atingir as bordas da placa, cobrindo a área total da placa.

A contagem de esporos foi realizada com auxílio da câmara de Neubauer ao termino da avaliação do crescimento micelial conforme relatado anteriormente.

Ensaio 4: Efeito de diferentes temperaturas sobre o crescimento

micelial e esporulação de Colletotrichum acutatum

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com três tratamentos e dez repetições cada. Os tratamentos foram (1) 20°C, (2) 25°C e (3) 30°C.

Como descrito anteriormente, o meio utilizado foi ágar + aveia, com fotoperíodo alternado. Uma vez que o pH do meio não teve influência sobre o desenvolvimento do fungo, não foi realizado ajuste para tal parâmetro procedendo-se ao teste de influência de temperatura.

Para o meio de cultura medida utilizada foi preparada para 1L de meio de cultura. O meio foi autoclavado (121°C/20 min) e vertidos em placas de Petri de 9 cm de diâmetro.

Após solidificação do meio, discos miceliais de aproximadamente 5 mm de diâmetro obtidos de colônias puras do fungo, confeccionados com auxílio de um vazador de metal, foram depositados no centro de cada placa, sendo essas vedadas e armazenadas em diferentes temperaturas (tratamentos), e expostas ao período luminoso alternado e pH do meio sem ajuste.

O crescimento micelial foi medido diariamente (mm/dia) no sentido diametricamente opostos das placas de Petri com auxílio de uma régua graduada, até que em um dos tratamentos atingir as bordas da placa, cobrindo a área total da placa.

A contagem de esporos foi realizada auxílio da câmara de Neubauer ao término da avaliação do crescimento micelial conforme os ensaios anteriores.

Análise estatística

Os dados coletados dos diferentes ensaios foram coletados e submetidos

ao teste de comparação de médias Tukey ao nível de 5% de probabilidade, com auxílio de programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

Resultados e Discussão*Ensaio 1: Efeito de diferentes meios de cultura no crescimento micelial e esporulação de Colletotrichum acutatum*

A avaliação do crescimento micelial para o ensaio de diferentes meios de cultura findou ao sétimo dia após a instalação do experimento, quando a colônia dos tratamentos ágar-nutriente e ágar - polpa de morango atingiram crescimento por toda superfície da placa de Petri.

Para crescimento micelial e número de esporos do *C. acutatum*, a análise de variância revelou diferenças significativas ($P < 0,05$) em função dos meios de cultivos utilizados. Os meios ágar + nutriente e ágar + polpa se destacaram no parâmetro crescimento micelial dos demais tratamentos. Por outro lado, o meio que apresentou menor crescimento micelial do fungo foi o meio BDA, com crescimento aproximado de 1,0 cm da colônia, conforme pode ser observado na Tabela 1.

Esses resultados podem ser explicados em função da quantidade de açúcares concentrados no meio, o que pode facilitar o crescimento das hifas sem gastos de energia. Entretanto, resultados divergentes dos ora apresentados foram constatados por Nozaki et al. (2004), os quais obtiveram maior crescimento micelial de *Diaporthe citri* em meio ágar + aveia comparados aos meios de maltose-peptona-ágar, milho, folha de laranja e folha de limoneiro.

Tabela 1. Influência de diferentes meios de cultura sobre o crescimento micelial (cm) e números de esporos de *Colletotrichum acutatum*, causador da antracnose no morangueiro, após 07 dias de incubação.

MEIOS DE CULTURAS	CRESCIMENTO MICELIAL (cm)	NÚMERO DE ESPOROS
BDA	1,061 d	46,5 b
ÁGAR- FOLHAS	2,466 bc	64,25 b
ÁGAR - ÁGUA	2,230 c	24,25 b
ÁGAR - NUTRIENTE	4,293 a	225,00 b
ÁGAR - AVEIA	2,921 b	721,50 a
ÁGAR- POLPA	4,095 a	99,75 b
MÉDIA	2,844	196,875
P value	0,00	0,00
CV (%)	27,81	46,41

*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Entretanto, para número de esporos, o meio que mais se destacou foi o ágar + aveia, diferindo dos demais tratamentos. Segundo Moore-Landecker (1972), os meios de cultura com alta concentração de carboidratos podem estimular o crescimento micelial, porém não a esporulação, como pode se observar ao comparar o desempenho dos meios de ágar + nutriente e ágar + polpa de morango no crescimento micelial com a esporulação apresentada.

Normalmente, como afirmam Dhingra e Sinclair (1995), os meios que contém menores teores de carboidratos e a presença de extratos de extratos vegetais estimulam a esporulação de fungos, entretanto este fato não foi passível de ser observado quando utilizado os meios ágar + polpa e ágar + folhas de morango.

A presença de aveia na composição do meio de cultura estimulou a esporulação do patógeno enquanto, reduziu o seu crescimento micelial pela sua menor quantidade de açúcares que são prontamente utilizados como fonte de energia. Santos et al. (2007), consideram a esporulação um processo específico, no qual envolve-se as células reprodutivas que podem ser afetadas por modificações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas,

dependentes da composição da nutrição do fungo pelo qual é determinado a quantidade e qualidade da esporulação.

Ensaio 2: Efeito de diferentes regimes de luminosidade sobre o crescimento micelial e esporulação de Colletotrichum acutatum

Os resultados da avaliação de crescimento micelial e esporulação de *C. acutatum* são demonstrados na Tabela 2. A avaliação do crescimento micelial findou ao oitavo dia após a instalação do experimento, no momento que a colônia do tratamento de exposição alternada a luz (12 horas luz/12 horas escuro) atingiu crescimento por toda placa de Petri. Para crescimento micelial e números de esporos do *C. acutatum*, a análise de variância revelou diferenças significativas ($P < 0,05$) em função dos períodos luminosos a que foram submetidos.

Quanto ao crescimento do patógeno, o tratamento com luz alternada destacou-se das demais, porém sem diferença estatística do tratamento utilizando-se escuro contínuo. Por outro lado, o tratamento com luz contínua gerou menor crescimento, com média de 2,76 cm por colônia, também não diferiu

significativamente do tratamento com escuro contínuo (Tabela 2).

Tabela 2. Influência de diferentes regimes de luminosidade sobre o crescimento micelial (cm) e números de esporos de *Colletotrichum acutatum*, causador da antracnose no morangueiro, aos 08 dias de incubação.

PERÍODOS LUMINOSOS	CRESCIMENTO MICELIAL (cm)	NÚMERO DE ESPOROS
LUZ CONTINUA	2,76 b	103,88 a
ALTERNADO	3,53 a	60,25 b
ESCURO CONTÍNUO	3,34 ab	40,25 b
MÉDIA	3,21	68,13
P value	0,00	0,00
CV (%)	54,49	31,35

* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Diferentemente, quando avaliado esporulação o tratamento que foi exposto a luz contínua apresentou superioridade frente aos demais, com expressiva diferença na contagem de esporos presentes nas colônias.

Igualmente, Casa et al. (2007) detectaram crescimento micelial maior sob regime alternado de luz e menor crescimento quando em regime luminoso de luz contínua, para *Stenocarpell amaydis* e *S. macrospora*. Schneider e Nozaki (2013), ao testar fotoperíodos diversos sobre o crescimento micelial de *Mycosphaerella fragariae*, não observaram influência de tal parâmetro sobre o patógeno quando avaliado fotoperíodo alternado e escuro contínuo.

Existe grande variação quando se trata do efeito da luz sobre o crescimento e desenvolvimento de *Colletotrichum* sp. Por exemplo, Russo e Pappelis (1993) relatam que colônias de *C. dematium* apresentaram aumento de 17 % no crescimento da colônia quando mantidas irradiadas com luz fluorescente, quando comparadas ao escuro contínuo. Diferentemente, Santos et al. (2005) observaram que a luz não se mostrou necessária para o crescimento *C. lindemuthianum*,

assemelhando-se ao resultado obtido no presente trabalho, levando em consideração que o tratamento de escuro contínuo apresentou menor crescimento do que a exposição alternada, porém não diferiu estatisticamente.

Em se tratando de produção de esporos, Nozaki et al. (2004) demonstraram que o regime de luminosidade contínuo foi favorável para maior produção de picnídios de *Diaporthe citri*. Entretanto, esse favorecimento também ocorreu para o crescimento micelial da colônia, diferindo do resultado obtido no experimento em questão.

A irradiação luminosa pode ter diferentes efeitos sobre o crescimento micelial e esporulação, sendo capaz de induzir, inibir ou ter efeito neutro. Porém, tem-se que a luz, associado à nutrição e à temperatura, estimula a reprodução dos fungos, tanto assexual quanto sexualmente, sendo estes em sua maioria sensíveis a luz, ocorrendo a esporulação quando expostos a luz contínua. No entanto, outros necessitam período escuro seguido por período luminoso para que isso ocorra, chamados de esporuladores diurnos (DHINGRA e SINCLAIR, 1995).

A multiplicação de fungos fitopatogênicos pode ser influenciada pela composição dos substratos como também por condições ambientais submetidas (Cruz et al., 2009). A maior produção de esporos *C. acutatum* em luz contínua pode estar relacionada ao estresse proporcionado pela exposição a luminosidade contínua, na qual reduziu o seu crescimento micelial, e induziu a produção de maior número de descendentes.

Ensaio 3: Influência do pH do meio de cultura sobre o crescimento micelial e esporulação de Colletotrichum acutatum

O crescimento micelial foi avaliado até o sétimo dia de condução do experimento quando os tratamentos com pHs ajustados a 6,0 e 7,0 atingiram crescimento por toda superfície da placa de Petri.

Para crescimento micelial e números de esporos de *C. acutatum*, a análise de variância não revelou diferenças significativas ($P < 0,05$) em função dos pHs do meio de cultura sobre o crescimento e desenvolvimento, não influenciando, portanto, o crescimento micelial e na esporulação do patógeno (Tabela 3.)

Tabela 3. Influência de diferentes pHs de meios de cultura sobre o crescimento micelial (cm) e números de esporos de *Colletotrichum acutatum*, causador da antracnose no morangueiro, aos 07 dias de incubação.

pH DO MEIO DE CULTURA	CRESCIMENTO MICELIAL (cm)	NÚMERO DE ESPOROS
4,0	3,02 a	8,67 a
5,0	3,38 a	12,5 a
6,0	3,59 a	3,33 a
7,0	3,55 a	11,00 a
8,0	3,33 a	8,50 a
MÉDIA	3,37	8,80
P value	0,86	0,11
CV (%)	70,29	66,64

* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Os fungos necessitam para o seu desenvolvimento pH mínimo de 2,0 e máximo de pouco acima de 7,0, tendo como uma faixa ótima de 4,5 a 5,5. Entretanto, o pH ótimo para o crescimento vegetativo pode não ser o melhor para a indução da esporulação (ZAUZA et al., 2007).

Carvalho (2014), verificou que o pH do meio de cultura foi um dos principais fatores de influência em todo o processo de produção de conídios de *Clonostachys rosea*, atingindo máxima produção em condições de pH 4,0 e 12

horas de luz, mesmo regime luminoso utilizado no trabalho em questão.

Dias e Ferraz (1993), ao testarem o efeito de diferentes níveis de pH de meios de culturas sobre o crescimento micelial em diferentes espécies de *Arthrobotrys*, constataram influência significativa apenas sobre o crescimento da espécie *A. musiformis* com maior crescimento em pH 6,0, como ocorrido também no presente trabalho, mesmo que não significativo, o *C. acutatum* obteve maior crescimento micelial em pH 6,0. Ainda, quando avaliaram a esporulação das diferentes espécies de

Arthrotrys, constataram diferenças entre elas, tendo *A. robusta* maior esporulação em pH 6,0 e *A. irregularis* e *A. thaumasia* em pH 4,0 diferindo assim dos resultados em questão.

Essa inespecificidade do patógeno apresentada pelo crescimento micelial e esporulação não ser influenciada pela variação de pH do meio de cultura se faz positiva para *C. acutatum* por proporcionar maior facilidade de desenvolvimento e estabelecimento do fungo em diversas condições de ambiente, se tratando de pH.

Ensaio 4: Efeito de diferentes temperaturas sobre o crescimento

micelial e esporulação de *Colletotrichum acutatum*

Ao décimo dia de condução do experimento se findou a avaliação do crescimento micelial quando os tratamentos submetidos a 25 e 30°C atingiram toda superfície do meio de cultura da placa de Petri.

Para crescimento micelial do *C. acutatum*, a análise de variância revelou diferenças significativas ($P < 0,05$) em função das temperaturas avaliadas. Entretanto, para o número de esporos a análise de variância não demonstrou diferenças significativas ($P > 0,05$), uma vez que não ocorreu esporulação do fungo estudado em nenhum dos tratamentos testados (Tabela 4).

Tabela 4. Influência de diferentes temperaturas sobre o crescimento micelial (cm) de *Colletotrichum acutatum*, causador da antracnose no morangueiro, aos 10 dias de incubação.

TEMPERATURAS	CRESCIMENTO MICELIAL (cm)
20°C	3,44 b
25°C	4,49 a
30°C	4,16 ab
MÉDIA	4,03
P value	0,04
CV (%)	55,29

*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Para crescimento micelial, o patógeno demonstrou melhor resposta em desenvolvimento quando submetido a 25°C, sendo, porém, semelhante quando comparando ao fungo exposto a 30°C, mas ainda com menor crescimento. O *C. acutatum* submetido a 20°C apresentou um menor crescimento que os demais tratamentos, sendo, porém, estatisticamente semelhante aos resultados obtidos a 30°C.

Segundo Sutton (1992), para a maioria das espécies de *Colletotrichum* a temperatura ideal para o crescimento vegetativo está entre a faixa de 25 a 30°C, fato esse confirmado pelo ensaio em questão.

Maia et al. (2011), ao avaliarem o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* detectaram um maior desenvolvimento micelial em temperaturas de 20 e 25°C. Tozze Junior et al. (2006) verificaram ao analisar isolados de *C. gloeosporioides* um melhor desenvolvimento das colônias na faixa de temperatura de 25 a 28°C, assemelhando-se ao constatado no trabalho em questão.

Quanto a temperatura ótima para a esporulação gênero *Colletotrichum*, esta pode variar muito. A maioria dos fungos quando submetidos a temperatura de 20 a 30°C têm um crescimento micelial satisfatório, porém,

para a esporulação essa faixa pode se diferir (Zauza et al., 2007). Entretanto, acredita-se que o motivo por qual não ocorreu a produção de esporos pode ser atribuída a idade do isolado do patógeno que era de 60 dias, podendo ter reduzido a sua capacidade de reprodução *in vitro*, já que a campo, essas condições de temperatura são consideradas propícias para seu amplo desenvolvimento.

Conclusões

Isolados de *Colletotrichum acutatum* apresentaram desenvolvimento superior em meio de cultura ágar + aveia, regime de luminosidade alternada (12 horas luz/12 horas escuro) e temperatura de 25°C. O pH do meio de cultura não influenciou o crescimento e desenvolvimento do patógeno.

Conhecendo os aspectos etiológicos do fungo é possível determinar o melhor método de controle para a doença.

Referências

- ALDRIGHI, M.; VIGNOLO, G.; JR REISSER, C.; ANTUNES, L.E.C. Panorama do cultivo de morangos no Brasil. **Revista Campo & Negócios**, 2015. Disponível em: <<http://www.revistacampoenegocios.com.br/panorama-do-cultivo-de-morangos-no-brasil/>>. Acesso em: 27 de março de 2017.
- ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. **Métodos em fitopatologia**. Viçosa: Ed. UFV, 2007. 382 p.
- ANTUNES, L. E. C.; CARVALHO, G. L.; SANTOS, A. M. **A cultura do morango**. - 2. ed. rev. e ampl. - Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 2011. 52p. - (Coleção Plantar, 68).
- ANTUNES, L.E.C.; REISSER JÚNIOR, C. Fragole, i produttori brasiliani mirano all' esportazione in Europa. **Frutticoltura**, v.69, p.60-65, 2007.
- CARVALHO, A.L.A. **Produção massal do fungo *Clonostachys rosea* em meio líquido**. 49 p. Dissertação (Msc.). Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG, 2014.
- CASA, R.T.; REIS, E.M.; ZAMBOLIM, L.; MOREIRA, E.N. Efeito da temperatura e regimes de luz no crescimento do micélio, germinação de conídios e esporulação de *Stenocarpella macrospora* e *stenocarpella maydis*. **Fitopatologia Brasileira**. v.32, n.2, p.137-142, 2007.
- CRUZ, M.F.A.; PRESTES, A.M.; MACIEL, J.L.N. Esporulação de *Pyricularia grisea* em diferentes meios de cultura e regimes de luz. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.5, p.1562-1564, 2009.
- DHINGRA, O.D.; SINCLAIR, J.B. **Basic plant pathology methods**. Second edition. CRC Lewis Publishers: Boca Raton. 434p. 1995.
- DIAS, W.P.; FERRAZ, S. Crescimento e esporulação de *Arthrobotrys* spp. em diferentes substratos, meios de cultura, pH e níveis de temperatura. **Nematologia Brasileira**, São Paulo, v.17, n.2, p.168-181, 1993.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.
- FORTES, J.F. Doenças do morangueiro. In: Embrapa Clima Temperado. **Sistema de produção do Morango**. Pelotas, 2005. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/SistemaProducaoMorango/cap06.htm>>. Acesso em: 9 mar. 2016.
- MAIA, F.G.M.; ARMESTO, C.; ZANCAN, W.L.A.; MAIA, J.B.; ABREU, M.S. Efeito da

temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *Colletotrichum* spp. Isolados de mangueira com sintomas de antracnose. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.27, n.2, p.205-210, 2011.

MOORE-LANDECKER, E. **Fundamentals of the Fungi**. Prentice-hall. London. p.482. 1972.

NOZAKI, M.H.; CAMARGO, M.; BARRETO, M. Caracterização de *Diaporthe citri*, em diferentes meios de cultura, condições de temperatura e luminosidade. **Fitopatologia Brasileira**. v.29, n.4, p.429-432, 2004.

RUSSO, V.M.; PAPPELIS, A.J. Mycelial elongation and sporulation of two fungi on amended media in light or dark. **Antonie van Leeuwenhoek**, Dordrecht, v.63, n.1, p.23-27, 1993.

SANTOS, A.F.; TESSMANN, D.J.; MAFACIOLI, R.; VIDA, J.B. **Etiologia e Controle da Antracnose da Pupunheira para Palmito**. Boletim de pesquisa e desenvolvimento. Colombo: Embrapa Florestas, 2007.

SANTOS, J.; REY, M.S.; ROSSETO, E.A.; PIEROBOM, C.R. Crescimento e esporulação de três raças de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) sob quatro condições de luminosidade. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v.11, n.4, p.493-495, 2005.

SCHNEIDER, C.F.; NOZAKI, M.H. Efeito de meio de cultura e regime luminoso no crescimento micelial de *Mycosphaerella fragariae*. **Revista Verde**, v.8, n.1, p.25-29, 2013.

SILVA, A.F.; DIAS, M.S.C.; MARO, L.A.C. Botânica e fisiologia do morangueiro.

Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.28, n.236, p.7-13, 2007.

SIMON, N.; MENEQUZZO, A.; CALGARO, A. Sistema de produção de morango para mesa na região da Serra Gaúcha e encosta superior do Nordeste. **Embrapa Uva e Vinho**. Sistema de Produção, 6. Versão Eletrônica, 2005.

SUTTON, B.C. The genus *Glomerella* and its Anomorph *Colletotrichum*. In: Bayley, J. A.; Jeger, M. J. (Ed.). **Colletotrichum, biology, pathology and control**. Wallingford: C. A. B. international, p.1-26, 1992.

TÖFOLI, J.G.; DOMINGUES, R.J. **Morango, controle adequado**. Instituto Biológico (SEAB/SP). Setembro/2005. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=38>. Acesso em: 27 de março de 2017.

TOZZE JUNIOR, H.J.; MELLO, B.A.; MASSOLA-JUNIOR, N.S. Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanáceas. **Summa Phytopathologica**. Botucatu, v.32, n.1, p.77-79, 2006.

ZAUZA, E.A.V.; ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. **Esterilização, preparo de meios de cultura e fatores associados ao cultivo de fitopatógenos**. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. Métodos em fitopatologia. Viçosa: Ed. UFV, 2007. 382p.