

MALTOSE-PEPTONA-ÁGAR, UM MEIO DE CULTURA PARA ESPORULAÇÃO DE *STEMPHYLIUM SOLANI*¹

DÉBORA MARIA MASSA LIMA²

RESUMO - Estudou-se a influência de diferentes meios de cultura sobre a esporulação de *Stemphylium solani*. Melhor esporulação foi obtida em placas-de-Petri contendo 10 ml de MP-5, havendo uma variação de 21.433 e 41.700 conídios/ml. Em placas com 20 e 25 ml, os conídios germinaram e produziram micélio, em quinze dias de cultivo.

Termos para indexação: mancha-foliar-do-tomateiro, mancha-parda-do-tomateiro.

MALTOSE-PEPTONE-AGAR, A CULTURE MEDIUM FOR SPORULATION OF *STEMPHYLIUM SOLANI*

ABSTRACT - The influence of different culture media on the sporulation of *Stemphylium solani* was studied. The best sporulation was obtained in a Petri-dishes containing 10 ml MP-5 with a variation of 21,433 - 41,700 conidia/ml. Conidia germinated and produced mycelium in fifteen days, in dishes with 20 and 25 ml MP-5.

Index terms: leaf spot of tomato, gray leaf spot of tomato.

INTRODUÇÃO

O tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) graças ao seu alto valor nutritivo, quer em estado natural, quer em suas formas industrializadas, se tornou uma das espécies de oleráceas de maior importância econômica para o Estado de Pernambuco.

Segundo dados da Fundação Estadual de Planejamento Agrícola & Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Pernambuco (1980), a produção interna de tomate industrial no ano de 1979 foi de, aproximadamente, 109.000 t.

Em decorrência da expansão e intensidade de seu cultivo, o problema de doenças causadas sobretudo por fungos vem se acentuando cada vez mais, constituindo-se num dos fatores responsáveis pela redução da produção. Entre as enfermidades que causam maiores danos à cultura do tomateiro, destaca-se a "mancha-parda", cujo agente causal é o *Stemphylium solani* Weber. Pelo fato de esse patógeno não esporular em meios de cultura comumente utilizados, trabalhos de melhoramento com vistas a fontes de resistência são, em parte, dificultados.

Estudos referentes à esporulação de *S. solani*

vêm sendo objeto da atenção de vários pesquisadores.

Weber (1930) conseguiu abundante esporulação em meio de batata-dextrose-ágar (BDA), sem utilizar técnicas especiais. Contudo, Andrus et al. (1942) e Frazier et al. (1946) não conseguiram esporulação nos meios testados. Hendrix et al. (1946), submetendo culturas em placas-de-Petri à radiação ultravioleta, conseguiram uma produção razoável de esporos em BDA. Diener (1952) obteve alta esporulação quando empregou o meio contendo 20% de suco de verduras V-8, tendo submetido as culturas, durante cinco minutos, à radiação ultravioleta, a uma distância de 15 cm. Diener (1955), usando este mesmo meio e expondo as culturas em placas-de-Petri fechadas, à radiação ultravioleta (312 - 546 nm) por um período de um e meio a doze minutos, obteve farta esporulação. Removendo as tampas das placas e submetendo as culturas a radiações de 254 - 546 nm, verificou que ocorreram efeitos letais.

Medeiros (1957) induziu esporulação utilizando o meio de BDA mais extrato de folhas de tomateiro, expondo as culturas à luz de lâmpada comum de 120 velas, durante quatro horas, após raspagem da superfície das culturas.

Namekata & Tokeshi (1967), utilizando a técnica recomendada por Diener (1952, 1955), ligeiramente modificada, conseguiram induzir esporulação empregando uma lâmpada tipo B-Black Raymaster 6322 - F, com comprimento de onda de

¹ Aceito para publicação em 13 de outubro de 1981. Trabalho parcialmente subvencionado pelo CNPq.

² Prof. Assist., M.Sc., Dept^o de Micologia, Univ. Fed. de Pernambuco, Av. Prof. Artur de Sá, s/n^o, Cidade Universitária, CEP 50000 - Recife, PE.

360 nm, estando as placas destampadas durante as radiações.

Minussi et al. (1973) conseguiram eficiente esporulação expondo as culturas à radiação ultravioleta de onda curta (274 nm) a uma distância de 15 cm, durante meio, um e dois minutos, estando as placas destampadas no momento das radiações. Minussi et al. (1977), estudando os efeitos de diferentes regimes de luz na esporulação de *S. solani*, demonstraram que, sob luz contínua, não havia esporulação. No entanto, quando tratadas com ultravioleta durante cinco minutos, após terem sido submetidas ao regime de luz contínua por cinco dias, ocorria esporulação.

Considerando que dentre os trabalhos efetuados não houve indicação de nenhum meio de cultura propício à esporulação espontânea desse patógeno, o presente trabalho teve os seguintes objetivos: Verificar a influência de diferentes meios de cultura sobre a esporulação de *S. solani*, e correlacionar diferentes quantidades dos meios testados, distribuídos em placas-de-Petri, com a maior ou menor produção de conídios.

MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram desenvolvidos no Setor de Micopatologia Vegetal do Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco.

Folhas de tomateiro coletadas nos municípios de Camocim de São Félix, Bonito e Bezerros, do Estado de Pernambuco, apresentando sintomas típicos da "mancha-foliar" após terem sido desinfetadas superficialmente com bicloreto de mercúrio a 1:1.000 durante um minuto, foram plaqueadas em meio de batata-dextrose-ágar (BDA), tendo-se obtido oito isolamentos de *S. solani*, sendo:

- Dois do material colhido em Bonito (1b, 1b');
- Dois, resultantes da coleta de Bezerros (1a, 1a');
- Quatro, restantes, provenientes do município de Camocim de São Félix (4a, 4b, 5a, 5a').

Levando-se em consideração a possível influência de fatores nutricionais sobre a esporulação deste patógeno, cada isolamento foi implantado em placas-de-Petri, com três repetições, contendo os seguintes meios:

- Batata-dextrose-ágar (BDA) - 200 g de batata, 17 g de dextrose, 15 g de ágar e 1.000 ml de água destilada;
- Aveia ágar (MA) - 50 g de farinha de aveia, 20 g de ágar e 1.000 ml de água destilada;
- Alimento infantil-carbonato de cálcio-ágar (MAI) (Santos Filho 1976) - 100 ml de alimento infantil (legumes sortidos Junior), 2 g de carbonato de cálcio, 15 g de ágar e 1.000 ml de água destilada;

- Maltose-peptona-ágar (MP-5) (Milanez 1967) - 4 g de maltose, 1 g de peptona, 20 g de ágar e 1.000 ml de água destilada.

Esses meios foram esterilizados em autoclave a 1 atmosfera de pressão, durante 20 minutos.

Culturas monospóricas foram obtidas a partir das colônias desenvolvidas em MP-5.

Visando verificar a influência da quantidade dos meios testados, na esporulação do fungo, foram preparadas placas-de-Petri contendo 5, 10, 20 e 25 ml de cada um dos meios.

As placas, após as inoculações, foram mantidas à temperatura ambiente (cerca de 28°C).

Decorridos quinze dias de inoculação, foram adicionados 5 ml de água destilada estéril às culturas, e, com uma alça de platina, fez-se a raspagem da superfície das colônias.

Ao microscópio ótico, utilizando a objetiva 40 x, procedeu-se a contagem total de conídios contidos em uma alíquota de 0,1 ml. Para cada uma das repetições, efetuaram-se duas leituras, multiplicando-se a média por 50, a fim de se obter o número de conídios por mililitro da suspensão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os diferentes meios de cultura testados, MP-5 demonstrou ser altamente eficaz para a esporulação de *S. solani*, tendo-se registrado a ocorrência de conídios em todos os isolamentos, a partir do terceiro dia após a implantação (Tabela 1).

Comparando-se os aspectos culturais e a esporulação dos isolamentos nos diversos meios, verificou-se que os isolamentos 1b e 5a obtiveram com-

TABELA 1. Conídios/ml produzidos por *Stemphylium solani* em placas-de-Petri contendo 10 ml de meios de cultura, após 15 dias de incubação em temperatura ambiente.

Isolamentos	Meios de cultura			
	BDA	MA	MAI	MP-5
1a	0	540	0	30.267
1a'	0	420	0	41.700
1b	90	590	0	35.533
1b'	0	0	130	35.833
4a	0	0	176	25.433
4b	0	457	0	29.733
5a	135	88	0	31.333
5a'	0	45	0	21.433

Os números são a média de três repetições.

portamento idêntico em todos os meios, tendo produzido escassa quantidade de esporos nos meios BDA e MA, e abundante produção em MP-5.

Em MA, não foi constatada esporulação apenas nos isolamentos 4a e 1b'.

Observou-se que a distribuição de diferentes quantidades de meios em placas-de-Petri está correlacionada com a maior ou menor produção de conídios. Em placas contendo mais de 10 ml de meio, verificou-se que após 15 dias de cultivo os conídios começaram a germinar, havendo desenvolvimento de micélio em toda a superfície do meio (Fig. 1). Em placas contendo 10 ml, houve abundante produção de conídios (Fig. 2), sem, contudo, ocorrer germinação e, conseqüentemente, produção de micélio; tudo indica que tenha havido esgotamento das substâncias componentes do

meio. Desse modo, 10 ml de MP-5, é a quantidade ideal para que se possam obter suspensões apenas de conídios, com a vantagem de não requerer tratamento com radiações ultravioleta.

REFERÊNCIAS

- ANDRUS, C.F.; REYNARD, G.B. & WADE, B.L. Relative resistance of tomato varieties, selections and crosses to defoliation by *Alternaria* and *Stemphylium* s.l., USDA, 1942. (Circular, 652).
- DIENER, U.L. A method for inducing abundant sporulation of *Stemphylium solani* in pure culture. *Phytopathology*, 42(1):7, 1952.
- DIENER, U.L. Sporulation in pure culture by *Stemphylium solani*. *Phytopathology*, 45(3):141-5, 1955.
- FUNDAÇÃO ESTADUAL DE PLANEJAMENTO AGRÍCOLA DE PERNAMBUCO & EMPRESA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL DE PERNAMBUCO, Recife, PE. Programa estadual de produção e abastecimento de tomate. Recife, 1980. 34p.
- FRAZIER, W.A.; KIKUTA, K.; FARLANE, J.S.M. & HENDRIX, J.W. Tomato improvement in Hawaii. *Proc. Am. Hort. Sci.*, 42:277-84, 1946.
- HENDRIX, J.W.; KIKUTA, K. & FRAZIER, W.A. Breeding tomatoes for resistance to gray leaf spot in Hawaii. *Proc. Am. Soc. Sci.*, 46:294-300, 1946.
- MEDEIROS, A.G. Processo para induzir esporulação de *Stemphylium solani* Weber, em cultura pura. Rio de Janeiro, Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícola, Ministério da Agricultura, 1957. 5p. (Comunicado Técnico, 2).
- MILANEZ, A.I. A study of aquatic "Phycomycetes" of the Gull Lake area in Michigan. s.l., Michigan State University, Department of Botany & Plant Pathology, 1967. 249p.
- MINUSSI, E.; CHAVES, G.M. & MATSUOKA, K. Indução de esporulação em *Stemphylium solani* Weber e resistência varietal do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) ao patógeno. *Experientiae*, 15 (9):235-56, 1973.
- MINUSSI, E.; MACHADO, C.C.; MENTEN, J.O.M.; CASTRO, C. & KIMATI, H. Efeitos de diferentes regimes de luz na esporulação de *Stemphylium solani* Weber, em meio de cultura. *Fitopatol. bras.*, 2(2): 167-71, 1977.
- NAMEKATA, T. & TOKESHI, H. Variabilidade de *Stemphylium solani* Weber, agente causal da mancha foliar de tomateiro no Estado de São Paulo. *An. Esc. Sup. Agric. "Luiz de Queiroz"*, São Paulo, 24: 273-87, 1967.
- SANTOS FILHO, H.P.; FERRAZ, S. & SEDIYAMA, C.S. Isolamento e esporulação "in vitro" de *Isariopsis griseola* Sacc. *Experientiae*, 22(7):175-93, 1976.
- WEBER, F.G. Gray leaf spot of tomato caused by *Stemphylium solani* sp. nov. *Phytopathology*, 20:513-8, 1930.

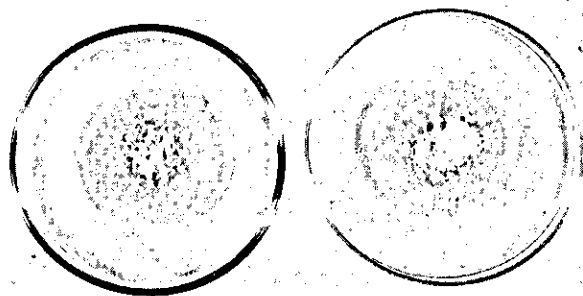


FIG. 1. Aspecto das colônias em placas-de-Petri contendo 20, à esquerda, e 25 ml do meio MP-5, quinze dias após o cultivo.

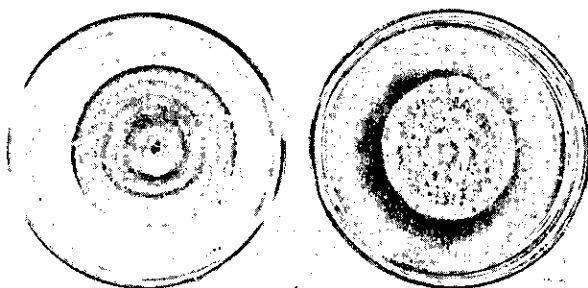


FIG. 2. Produção de conídios em placas-de-Petri contendo 10 ml dos meios MP-5, à esquerda, e BDA, aos quinze dias de cultivo.