

CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS DE *Monilinia fructicola* EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA

MARIANA MATHIESEN STIVAL¹
 NATIELI SILVANA DOS SANTOS DOIMO¹
 NATALÍCIO MANOEL SANTOS FILHO¹
 GUSTAVO MANNA CESAR²
 ANDRÉA DANTAS DE SOUZA³

RESUMO

A podridão parda é considerada a principal doença pré e pós-colheita do pêssego, sendo causada pelo fungo *Monilinia fructicola*. O presente trabalho objetiva analisar qual o melhor meio de cultura para o crescimento, esporulação e tempo de sobrevivência do fungo. Discos de 7 mm da cultura pura foram dispostos em placas de Petri com 20mL dos meios de cultura: batata ágar dextrose (BDA); ágar - suco de pêssego industrializado (PI); ágar - suco de pêssego natural (PN); Pagnocca (P) e Sabouraud (S), incubadas em B.O.D a 28±1°C durante 10 dias. Obteve-se o Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) através da leitura diária até que a colônia chegasse na borda da placa. A Concentração de Esporos (CE) foi determinada com hemocitômetro, utilizando-se o CALIBRA. O delineamento foi inteiramente casualizado com 4 repetições. Os maiores IVCM foram PI, PN e S, todos com 7,3 mm/dia, diferindo dos demais. Para a CE, o melhor resultado foi obtido em BDA (3,44x10⁶ esporos/mL), não diferindo de S e P. A sobrevivência está em andamento em tubos inclinados com 10mL dos meios e mantidos a 5±1°C. Conclui-se, até o momento, a superioridade do meio Sabouraud. Contudo, o resultado de sobrevivência é importante para a eleição do melhor meio, no restabelecimento do fungo em posteriores ensaios científicos.

Palavras-chaves: podridão parda; *Monilinia fructicola*; pêssego.

ABSTRACT

The colored rot fungi are considered the main pre and post harvest peach disease, caused by the fungus *Monilinia fructicola*. This study aims to analyze what is the best culture media for growth, sporulation and lifespan of the fungus. 7 mm discs of pure culture were placed in Petri plates with 20 ml of culture media: potato dextrose agar (PDA), agar - industrial peach juice (IP); agar - natural peach juice (NP); Pagnocca (P) and Sabouraud (S), incubated BOD at 28 ± 1°C for 10 days. This achieved a Speed Growth Mycelial Index (SGMI) by reading daily until the colony reached the edge of the plate. The spore concentration (SC) was determined by hemocytometer, using the CALIBRA. The completely randomized design was with four replications. The largest SGMI were IP, NP and S, all with 7.3 mm/day, differing from the other. For the SC, the best result was obtained on the PDA (3.44 x 10⁶ spores/mL) did not differ from S and P. Survival progressed in proof tubes with 10 ml of media and maintained at 5 ± 1 ° C. The conclusion is, so far, the study of the superiority of Sabouraud medium. However, the result of survival is important to elect the best way in restoring the fungus in subsequent scientific tests.

Keywords: brown rot; *Monilinia fructicola*; peach.

¹ Acadêmicos do curso de graduação de Engenharia Agrônoma – Faculdade Cantareira.

² Engenheiro Agrônomo – Faculdade Cantareira

³ Docente do curso de Engenharia Agrônoma – Faculdade Cantareira

INTRODUÇÃO

O pêssego é um fruto que apresenta uma significativa perda pós-colheita causada pelo severo ataque da podridão-parda, cujo agente causal é o fungo *Monilinia fructicola* (CARVALHO; CHALFOUN, 1997). Esse fungo penetra nos tecidos vegetais através de danos mecânicos que ocorrem durante a colheita, manuseio, transporte e armazenamento dos frutos, levando-os à deterioração (BERGAMIM FILHO; AMORIM, 1996).

Na pré-colheita, os frutos infectados possuem pequenas lesões pardas, com aspecto encharcado, que evoluem para grandes manchas marrons cobertas pela esporulação do fungo, principalmente quando estes estão na fase de maturação. O fungo se desenvolve nos espaços intercelulares e secreta enzimas, causando a maceração e o apodrecimento do tecido infectado (BYRDE; WILLETS, 1977). Depois da colonização, os frutos perdem água e se tornam mumificados, permanecendo na planta ou no solo, formando uma fonte de inóculo secundário para novas infecções, que podem aumentar a severidade da doença em pré e pós-colheita (MAYDE MIO et al., 2004; HONG et al., 1997). Villarino et al. (2010) demonstraram uma relação positiva entre o número de frutos mumificados na árvore e a incidência de podridão parda em pós-colheita através de uma equação de regressão.

Em pêssegos destinados ao consumo *in natura*, os danos pós-colheita causados por fungos, principalmente a podridão parda, acarretaram em grandes perdas no mercado atacadista de São Paulo (MARTINS et al., 2006). A carência de cultivares resistentes faz desta doença a de maior importância econômica nos pomares de pessegueiro em todo o mundo (OGAWA et al., 1995).

Características fisiológicas de <i>Monilinia fructicola</i> em diferentes meios de cultura 2013 (E)	Mariana Mathiesen Stival [et al.]
---	-----------------------------------

A composição de um meio de cultura, a temperatura e a luminosidade são fatores determinantes no crescimento micelial e esporulação de fitopatógenos. A quantidade de inóculo produzida varia significativamente em função da espécie, do isolado e, principalmente, das condições nutricionais (SIMMONS, 1992).

A infecção pela *Monilinia fructicola* é favorecida com uma umidade do ar alta e temperatura elevada (BIGGS; NORTHOVER, 1988; KOBALL et al., 1997). A temperatura apresenta um grande efeito na germinação, infecção, período de incubação e de latência do patógeno. Uma temperatura de 25°C é ideal para o crescimento do micélio, germinação e produção de conídios (BLEICHER, 1997).

Este trabalho tem como objetivo analisar o melhor meio de cultura para o crescimento, esporulação e tempo de sobrevivência do fungo *Monilinia fructicola*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de Fitossanidade do Centro Tecnológico de Estudos Avançados, na Faculdade Integral Cantareira, São Paulo. Discos de 7 mm da cultura pura *Monilinia fructicola* foram dispostos em placas de Petri com 20mL dos meios de cultura (figura 1): batata dextrose ágar (BDA); ágar-suco de pêssigo industrializado (PI); ágar-suco de pêssigo natural (PN); Pagnocca (P) e Sabouraud (S) (tabela 1). As placas foram incubadas em B.O.D a 28±1°C durante 10 dias.

Tabela 1. Tratamentos

TRATAMENTOS	COMPOSIÇÃO PARA 250 ML DE ÁGUA DESTILADA
T1 - (BDA)	Batata-dextrose-ágar
T2 - PAGNOCCA (P)	2,5 g glicose; 1,25 g cloreto de sódio; 1,25 g peptona; 2,5 g extrato de malte; 3,75 g ágar
T3 - ÁGAR-SUCO DE PESSEGO INDUSTRIALIZADO (PI)	50 mL suco de pêssego industrializado; 3,75 g ágar; 0,75 g carbonato de cálcio
T4 - ÁGAR- SUCO DE PÊSSEGO NATURAL (PN)	50 mL de pêssego batido; 3,75 g ágar; 0,75 g carbonato de cálcio
T5 - SABOURAUD (S)	Peptona-dextrose- ágar



Figura 1. Tratamentos, placas de Petri com os diferentes meios de cultura e repicagem da *Monilinia fructicola* em disco de 7 mm.

A avaliação foi feita medindo-se diariamente o tamanho da colônia nos dois sentidos perpendiculares da placa com o auxílio de um paquímetro digital, até a colônia completar a placa (10 dias). De acordo com Maguire (1962), adaptado por Oliveira (1991), obteve-se o Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) pela equação 1.

$$\text{IVCM} = \Sigma(D-D_a)/N,$$

Equação 1

sendo D = diâmetro médio atual da colônia; D_a = diâmetro médio da colônia do dia anterior e N = número de dias após a inoculação.

A Concentração de Esporos (CE) foi determinada no décimo dia. Obteve-se uma suspensão de esporos adicionando-se 1 mL de água destilada esterilizada em cada placa, espalhando-se com o auxílio de uma alça de Drigalsky. Foi colocada uma gota de Tween num tubo de ensaio contendo a suspensão de esporos e, em seguida, utilizou-se o vórtex. A suspensão foi retirada do tubo de ensaio com o auxílio de uma micropipeta para quantificação em câmara de Neubauer. Utilizou-se o Sistema para Contagem de Esporos Microbianos e Calibração de Suspensão (**CALIBRA**). O delineamento foi inteiramente casualizado com 4 repetições.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

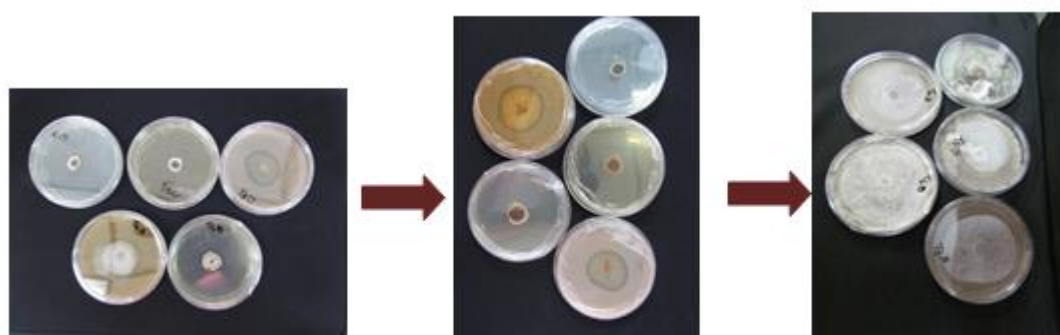


Figura 2. *Monilinia fructicola* em crescimento nos diferentes meios de cultura

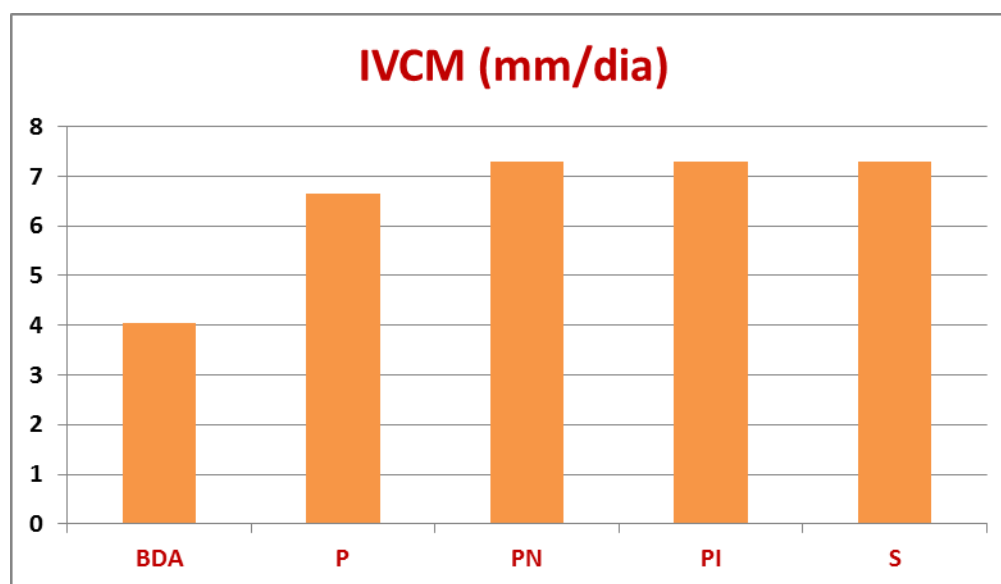


Figura 3. IVCM dos diferentes tratamentos

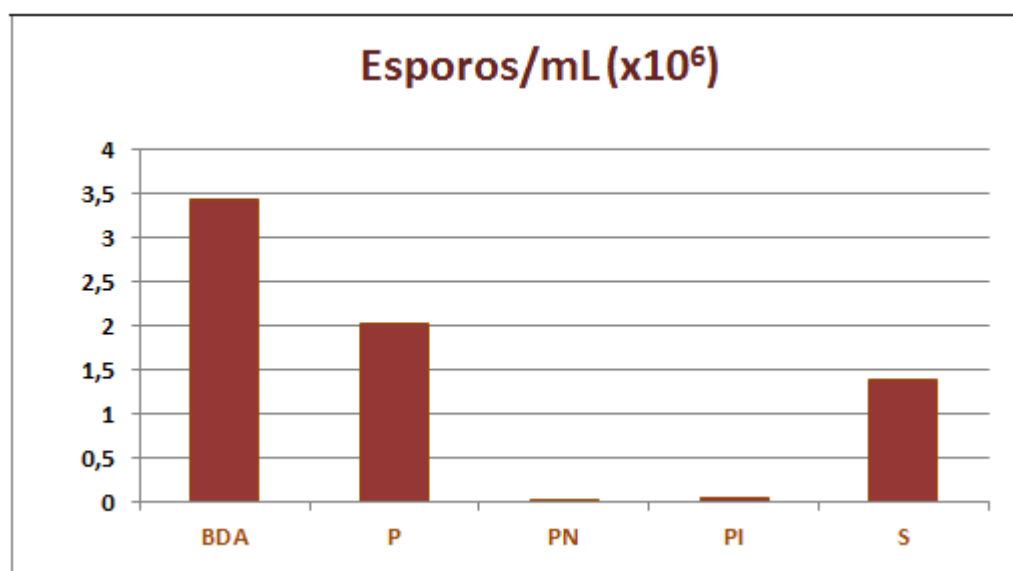


Figura 4. Concentração de esporos dos diferentes tratamentos

De acordo com a figura 3, os maiores IVCM foram para Ágar-suco de pêssgo natural (PN), Ágar-suco de pêssgo industrializado (PI) e Sabouraud (S), todos apresentando 7,3 mm/dia, diferindo dos demais tratamentos. Para a Concentração de Esporos (CE) (figura 4), o melhor resultado foi obtido em BDA ($3,44 \times 10^6$ esporos/mL),

Características fisiológicas de <i>Monilinia fructicola</i> em diferentes meios de cultura 2013 (E)	Mariana Mathiesen Stival [et al.]
---	-----------------------------------

não diferindo de Sabouraud (S) e Pagnocca (P). A sobrevivência está em andamento em tubos inclinados com 10mL dos meios e mantidos a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$.

CONCLUSÃO

Conclui-se, até o momento, a superioridade do meio Sabouraud. Contudo, o resultado de sobrevivência é importante para a eleição do melhor meio no restabelecimento do fungo em posteriores ensaios científicos.

REFERÊNCIAS

BERGAMIM FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais**: epidemiologia e controle econômico. São Paulo: Agronômica Ceres, 1996. 289p.

BIGGS, A.R.; NORTHOVER, J. Influence of temperature and wetness duration on infection of peach and cherry fruits by *Monilinia fructicola*. **Phytopathology**, v.78, p.1352–1356. 1988.

BLEICHER, J. Doenças de rosáceas de caroço. In: Kimati, H.; Amorim, L.; Bergamin F.; Camargo, L.E.A.; Rezende, J.A.M. (eds.) **Manual de Fitopatologia**: doenças das plantas cultivadas. 3.ed. São Paulo: Ceres, 1997. p. 621-627.

BYRDE, R.J.W.; WILLETTS, H.J. **The brown rot of fruit**: their biology and control. Pergamon Press, 1977.

CARVALHO, L.; CHALFOUN, M. Doenças do Pessegueiro. In: Pessegueiro e Ameixeira. **Informe Agropecuário**, v. 18, n. 189, 1997, p. 51-55.

HONG, C.; HOLTZ, B.A.; MORGAN, D.P.; MICHAILIDES, T.J. Significance of thinned fruit as a source of the secondary inoculum of *Monilinia fructicola* in California nectarine orchards. **Plant Disease**, St. Paul, v. 81, n. 5, p. 519-524. 1997.

KOBALL, D.C.; WILCOX, W.F.; SEEM, R.C. Influence of incubation-period humidity on the development of brown rot blossom blight of sour cherry. **Phytopathology**, v.87, p. 42-49, 1997.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aido in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, Mar./Apr. 1962.

MARTINS, M.C.; LOURENÇO, S.A.; GUTIERREZ, A.S.D.; JACOMINO, A.P.; AMORIM, L. Quantificação de danos pós-colheita em pêssegos no mercado atacadista de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 1, p. 5-10, 2006.

MAY-DE MIO, L.L.; GARRIDO, L.; UENO, B. Doenças de fruteiras de caroço. In: MONTEIRO, L.B.; MAY-DE MIO, L.L.; SERRAT, B.M.; CUQUEL, F.L. (Eds) **Fruteiras de caroço**: uma visão ecológica. UFPR, 2004. p.169-222.

OGAWA, J.M.; ZEHR, E.I.; BIRD, G.W.; RITCHIE, D.F.; URIU, K.; UYEMOTO, J.K. **Compendium of stone fruit diseases**. APS press, 1995. 98p.

OLIVEIRA, J.A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L.) e pimentão (*Capsicum***

Características fisiológicas de <i>Monilinia fructicola</i> em diferentes meios de cultura 2013 (E)	Mariana Mathiesen Stival [et al.]
---	-----------------------------------

annum L.). 1991. 111p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 1991.

SIMMONS, E.G. *Alternaria* taxonomy: current status, viewpoint, challeng. In: Chalkowski, J. & Visconti, A.C.J. (Eds.). **Alternaria Biology, Plant Diseases & Metabolites**. Amsterdam. Elsevier. 1992. pp.1-35.

VILLARINO, M.; MELGAREJO, P.; USALL, J.; SEGARRA, J.; DE CAL, A. Primary inoculum sources of *Monilinia* spp. in Spanish peach orchards and their relative importance in brown rot. **Plant Disease**, v.94, p.1048-1054, 2010.