



## Caracterização morfotintorial de *Colletotrichum spp.* causador de antracnose em frutos de figo cultivados experimentalmente no perímetro irrigado de São Gonçalo, Sousa-PB

### *Morphologic and dyeing of Colletotrichum spp. causing anthracnose fruit of fig grown experimentally in the irrigation of São Gonçalo, Sousa-PB*

Damião Junior Gomes<sup>1</sup>, Oscar Mariano Hafle<sup>2</sup>, Nelieide Medeiros Gomes<sup>3</sup>, Antonia Mendes Meira Fernandes<sup>4</sup> Patrício Borges Maracajá<sup>5</sup>

**RESUMO:** Como alternativa da inserção de novas culturas na região do Semiárido brasileiro temos o figo 'Roxo de Valinhos' (*Ficus carica* L.) uma planta família Moraceae que pode muito bem ser inserida no contexto da agricultura familiar, mas que vem sofrendo infecção por um fungo do gênero *Colletotrichum* provocando importantes perdas econômicas no agronegócio e também no campo da pesquisa e extensão. Este trabalho teve como objetivo caracterizar a morfologia de isolados de *Colletotrichum spp.* causador de antracnose pós-colheita em frutos de *Ficus carica* L. cultivado experimentalmente no perímetro irrigado da São Gonçalo no município de Sousa-PB. Primeiramente identificou os frutos com sintomas de antracnose seguido de sua desinfecção com álcool a 70%. Logo fez-se montagem em lâmina de microscopia para um prévia avaliação do patógeno. O fungo foi isolado em Batata-Dextrose-Ágar a 25°C durante 10 dias. Seguidamente foi feito o microcultivo no mesmo meio de cultura para a análise morfo-tintorial do micélio usando como corante azul de algodão e lactofenol de amann.

**Palavras-chave:** *Ficus carica*, podridão, *Colletotrichum*, microcultivo.

**ABSTRACT:** Como alternativa da inserção de novas culturas na região do Semiárido brasileiro temos o figo 'Roxo de Valinhos' (*Ficus carica* L.), a plant family Moraceae that may well be placed in the context of family farming, but has suffered a fungal infection the genus *Colletotrichum* causing important economic losses in agribusiness and also in research and extension. This study aimed to characterize the morphology of *Colletotrichum spp.* causing anthracnose postharvest fruits of *Ficus carica* L. experimentally grown in the irrigated area in the municipality of São Gonçalo de Sousa -PB. First identified fruit with anthracnose symptoms followed by disinfection with a 70% alcohol. Soon made up mount microscope slide for prior assessment of the pathogen. The fungus was isolated on Potato Dextrose Agar at 25 °C for 10 days. Then microculture was made in the same medium for analysis Morphological and dyeing the mycelium using as blue dye lactophenol cotton and amann.

**Key words:** *Ficus carica*, rot, *Colletotrichum*, microcultive.

\*Autor para correspondência

Recebido para publicação em 15/01/2015; aprovado em 25/02/2015

<sup>1</sup>Farmacêutico, Mestre em Sistemas Agroindustriais UFCG CCTA Campus Pombal, Servidor Técnico -Administrativo Laboratório de Análises Microbiológicas de Alimentos Instituto Federal da Paraíba - IFPB Campus Sousa. E-mail: damiaojuniorgomes@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Licenciado em Ciências Agrícolas D. Sc., Professor do Ensino Técnico e Tecnológico Instituto Federal da Paraíba Campus Sousa

<sup>3</sup>Estudante de Farmácia, Faculdade São Francisco da Paraíba Cajazeiras -PB

<sup>4</sup>Estudante de Farmácia, Faculdade São Francisco da Paraíba Cajazeiras -PB

<sup>5</sup>Engº Agrônomo, D.Sc., Universidade Federal de Campina Grande Campus Pombal

## INTRODUÇÃO

A figueira é uma frutífera de expressão econômica para o Brasil. É uma árvore da família Moraceae, originária da região do Mediterrâneo e trata-se de umas das primeiras plantas cultivadas pelo homem. É uma planta perene com porte arbustivo, que inicia a produção após um ano de plantio no campo (MAIORANO, 2010).

Segundo Leonel & Tecchio (2010) o Brasil é atualmente, o segundo maior exportador de frutos *in natura* do mundo, e, no Estado de São Paulo a cultura está concentrada na região de Valinhos-Campinas e seu cultivo é realizado principalmente por agricultores familiares.

Ainda conforme Leonel & Tecchio (2010), a figueira por ser originária da região mediterrânica, onde predomina clima subtropical temperado, é uma planta que se adapta aos diferentes climas, sendo cultivada em regiões subtropicais, temperadas e inclusive, pela sua baixa exigência pelo frio pode levar a valorização das terras e da grande urbanização da região produtora original.

Kotz e colaboradores (2011) relatam que a preferência por comercializar apenas o figo 'Roxo de Valinhos' (*Ficus carica* L.), tem trazido sérios problemas aos ficicultores de do interior de São Paulo, devido à ocorrência de sérios problemas fitossanitários incluindo entre os principais alguns nematoides como *Meloidogyne incognita* e *Heterodera fici*, a ferrugem da figueira causada por *Ceratium fici* e a seca devida a presença de *Ceratocystis fimbriata*.

A antracnose é uma doença causada pelo fungo *Colletotrichum* spp. que infecta grande variedade de plantas. Razão pela qual o estudo deste patógeno possui elevado interesse econômico em plantas de diversas famílias botânicas. O fungo ataca principalmente frutos e os sintomas da doença são caracterizados pela presença de lesões circulares e deprimidas, de tamanho variável, as vezes com a presença de uma massa de conídios, normalmente alaranjada. A doença se desenvolve principalmente em clima quente e úmidos. Estes sintomas podem aumentar na fase de pós-colheita, o que elevam ainda mais os prejuízos, devido ao fato de os frutos já estarem preparados para a comercialização (SOUSA, SERRA & MELO, 2012).

O sintoma típico de da doença antracnose é caracterizado por lesões grandes e arredondado, necrótico e bordos elevados com o centro dos tecidos deprimidos. O fungo do gênero *Colletotrichum* penetra frutos ainda verde, este por sua vez permanece inativo até amadurecer (BONNETT *et al*, 2010).

Não é tão fácil identificar espécie do gênero *Colletotrichum*, pois, esta apresenta poucas características morfológicas distinguíveis e as fases teleomórfas quase não são formadas (LÓPEZ, 2001).

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a morfologia de isolados de *Colletotrichum* spp. causador de antracnose pós-colheita em frutos de *Ficus carica* L. cultivado experimentalmente no perímetro irrigado da São Gonçalo no município de Sousa-PB.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Os isolados de *Colletotrichum* spp. foram obtidos de frutos maduros de *Ficus carica* L. cultivados na escola-fazenda o Instituto Federal da Paraíba, Campus Sousa (IFPB-Sousa), localizado no Perímetro Irrigado de São Gonçalo (6° 45' S de latitude, 38° 13' W de longitude e altitude 223 m), no período de dezembro de 2011 a abril de 2012. Os frutos identificados com sintomas típicos da doença foram desinfestados com álcool a 70% por dois minutos, retirando-se o excesso com papel toalha. A etapa seguinte foi à montagem de lâmina e observação em microscopia óptica para uma prévia avaliação morfológica do patógeno (BONNET *et al*, 2010).

Em seguida, através do método direto obteve o isolado do fungo utilizando Batata-Dextrose-Ágar (BDA), cujos esporos foram inoculados no meio de cultura citado acondicionado em uma Placa de Petri e cultivados sobre uma temperatura de 25°C com variação de 2°C em uma incubadora BOD durante dez dias (BONNET *et al*, 2010).

Do crescimento obtido, foram feitas repicagens em meio BDA, submerso com óleo mineral. Este procedimento foi necessário para a conservação das amostras (BONNET *et al*, 2010).

Para a análise micelial, procedeu-se o microcultivo em meio BDA. Neste caso a avaliação foi feita após as 24 horas (BONNET *et al*, 2010).

As análises morfo-tintoriais dos micelos foram realizadas pela coloração com azul de algodão e lactofenol de amann (PERES *et al*, 2003).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 expressa a média do tamanho das lesões medido em 12 frutos maduros nos seis meses de pesquisa. A maior lesão foi observada no último mês. As cores das colônias dos fungos variaram entre branco e salmão e ainda apresentaram tons de cinza. O pigmento branco predominou nos primeiros dias seguindo variações posteriores. Foram observados conídios agrupados formando uma massa de coloração de cor salmão e empalidecido semelhante a descrição feita Brand *et al* (2010) em seu trabalho sobre o uso de extratos de alho e alecrim na indução de faseolina em feijoeiro e fungotoxicidade sobre *Colletotrichum lindemuthianum*.

**Tabela 1:** Média em centímetro do tamanho das lesões em frutos maduros de *Ficus carica* L. cultivados entre novembro de 2011 e abril de 2012.

Novembro	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril
3,04	2,85	2,94	3,45	3,60	3,65

**Tabela 2:** Coloração das bordas do micélio do isolados *Colletotrichum* spp em frutos maduros *Ficus carica* L. cultivados entre novembro de 2011 e abril de 2012.

Novembro	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril
Branca	Banca	Branca/cinza	Branca/cinza	Cinza	Cinza

**Tabela 3:** Coloração da massa conidial do isolados *Colletotrichum spp* em frutos maduros *Ficus carica L.* cultivados entre novembro de 2011 e abril de 2012.

Novembro	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril
Salmão	Salmão empalidecido	Salmão empalidecido	Salmão	Salmão empalidecido	Salmão empalidecido

Em 2009 Gunawardhana *et al* realizaram estudos morfológicos de 40 isolados de *C. gloeosporioides* procedentes de *Capsicum frutescens*, *Carica papaya*, *Mangifera indica*, *Persea americana*, *Ficus religiosa* e *Hevea brasiliensis* e observaram estas mesmas características morfológicas e tintoriais com variação na cor da colônia entre branco e cinza escuro. Ainda notaram mudança de cor na região central notadamente em isolados de *Carica papaya*.

Para Andrada *et al* (2007) as características que melhor distinguiram os isolados de *C. gloeosporioides em mamão* foram o formato cilíndrico ou abcláveo dos conídios, bem com sua relação comprimento/largura inferior a 3,9, e a produção de apressórios lobados ou fracamente lobados. Os mesmos autores lembram que a diferenciação entre espécies com base nas dimensões de conídios e apressórios é dificultada pela sobreposição, pois a maioria dos isolados de mamão apresentou dimensões dentro da faixa de variação descrita para as duas espécies, *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*. Não sendo este, portanto, o melhor o critério de escolha para diferenciar estas duas espécies.

O genótipo dos isolados é determinante para as variações das colônias, uma vez que a expressão fenotípica está intimamente ligada ao local de cultivo e suas variações. Ao genótipo ainda é atribuído diferentes metabólitos secundários que tem sido caracterizado em *Colletotrichum*, permitindo o surgimento de variações tanto culturais quanto patogênicas. Este fatores caracterizam presença de *Colletotrichum sp*, o que pode surgir variações culturais e com potencial patogênico era o que defendia Bailey & Jerger (1992).

Para Cai *et al* (2009) não é tão simples diferenciar espécie do complexo gloeosporioides uma vez que em sua pesquisa apenas 14% das suas sequências designadas como *C. gloeosporioides* em GenBank são da espécie *C. Gloeosporioides*.

Uma única planta pode ser hospedeira de várias espécies de *Colletotrichum*. Em 2010 Phoulivong e colaboradores estudaram isolados deste fungo em oito frutos e confirmaram esta circunstância.

Soares, Lourenço & Amorim (2008) realizaram uma pesquisa sobre Infecção de goiabas por *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum acutatum* sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento e não foi constatada diferença estatística entre as espécies. A rápida germinação e formação de apressórios em ampla faixa de temperatura indicam habilidade das duas espécies em explorar condições noturnas, com temperaturas mais amenas e prolongado período de orvalho e diurnas, com altas temperaturas, que são características de situações de campo durante o verão.

O gênero *Colletotrichum* é capaz de causar infecção também em plantas de interesse na medicina como o cártamo (*Carthamus tinctorius*) que é uma espécie cultivada de importância medicinal e industrial e atualmente é considerada uma planta de grande potencial na produção de biodiesel. Carneiro *et al* (2012) verificaram qual o agente causal de lesões foliares de plantas sintomáticas e realizaram teste de

patogenicidade dos isolados. A observação e análise de estruturas reprodutivas do patógeno em meio de cultura e no tecido do hospedeiro, assim como a PCR táxon-específica permitiram a identificação dos isolados do fungo como pertencentes à espécie *Colletotrichum gloeosporioides*.

Rosa, Serra & Melo (2012) avaliaram lesões em frutos de pimenta depois das tapas de limpeza e desinfestação do material, fragmentos da região de transição, entre a lesão e os tecidos sadios transferindo-os para placas de Petri contendo meio de cultura BDA e, em seguida, incubados a 25±2°C, sob alternância luminosa e posteriormente, os fragmentos do micélio das colônias foram transferidos para tubos contendo BDA e incubados nas mesmas condições. A análise da sequência de do DNA ribossossomal confirmou ser *Colletotrichum gloeosporioides* o agente causador destas lesões.

Há relatos de infecção de feijoeiro por *Colletotrichum lindemuthianum* com considerada tolerância a agentes biológicos. Aplicação de extrato aquoso basidiocarpo de *Pycnoporus sanguineus* reduz a severidade da actracnose, em média, em 54% para a primeira folha trifoliolada tratada e inoculada e em 72% para a segunda folha apenas inoculada, indicando indução de resistência sistêmica (BALDO *et al*, 2011).

Serra *et al* (2011) fizeram um estudo sobre diversidade fenotípica, patogênica e identificação de espécies de *Colletotrichum* em mangueiras no Nordeste brasileiro e diagnosticaram ser as espécies *gloeosporioides* e *acutatum* as principais causadoras da antracnose.

Costa *et al* (2010) investigaram a incidência de *Colletotrichum* em colmos de genótipos de milho e evidenciaram a predominância de *C. graminicola* como agente causal na área do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo CNPMS – Embrapa em sete Lagoas - MG. Para estes autores a predominância de *C. graminicola* na safra 2006/2007 ocorreu, provavelmente, devido ao maior potencial de inóculo na área de plantio devido a ausência de diferenças significativas nas condições climáticas (temperatura, umidade relativa e precipitação) prevalentes durante as safras de verão.

São inúmeras as plantações afetadas por fungos do gênero *Colletotrichum* e causam prejuízos econômicos e, sobretudo problemas fitossanitários. Macieras não estão fora do leque das plantas afetadas. Araújo & Stadnik (2011), estudaram processos infecciosos nestas frutíferas e concluíram que *C. gloeosporioides* afetaram estas plantas mesmo sendo resistentes e suscetíveis à doença. Para eles, a variação do tempo é significativa para a germinação de conídios e formação de apressórios bem como para o vegetal sintetizar importantes enzimas como peroxidases (PODs) e GLU β-1,3-glucanases (GLUs) importantes do processo de defesa contra patógenos.

## CONCLUSÃO

Foi possível concluir que o gênero do patógeno causador da podridão dos frutos de *Ficus carica L.* foi

realmente um fungo do gênero *Colletotrichum*, não sendo possível neste momento identificar a espécie.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, L.; STADNIK, M. J. Processo infeccioso e atividade de enzimas em plântulas de macieira de genótipo resistente ou suscetível à mancha foliar de *Glomerella* causada por *Colletotrichum gloeosporioides*. *Tropical plant pathol*, v.36, n.4, p.241-248, 2011.
- BAILEY, J. A.; O'CONNELL, R. J.; PRING, R. J.; NASH, C. Infection strategies of *Colletotrichum* species. In: Bailey, A. J.; Jeger, J. M. *Colletotrichum: biology, pathology and control*. Oxford, British Society for Plant Pathology, p. 88-120, 1992.
- BALDO, M. et al. Detecção *in situ* de espécies reativas de oxigênio em feijoeiro tratado com extratos de *Pycnoporus sanguineus* e inoculado com *Colletotrichum lindemuthianum*. *Summa phytopathol*, v.37, n.4, p.174-179, 2011.
- BONNET, L. P. et al. Caracterização morfo-cultural e infecção cruzada de *Colletotrichum gloeosporioides* agente causal da antracnose de frutos e hortaliças em pós-colheita. *Ambiência*, Guarapuava, v. 6, n.3, v.6. p. 451 – 463, 2010.
- BRAND, S. C. et al. Extratos de alho e alecrim na indução de faseolina em feijoeiro e fungitoxicidade sobre *Colletotrichum lindemuthianum*. *Ciência Rural*, v.40, n.9, p.1881-1887, 2010.
- CAI, L. et al. A polyphasic approach for studying *Colletotrichum*. *Fungal Diversity*, Indonesia, v. 39, n. 1, p. 183–204, 2009.
- CARNEIRO, S. M. de T. P. G. et al. Ocorrência de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. em *Carthamus tinctorius* L. no estado do Paraná. *Summa phytopathol*, v.38, n.2, p.163-165, 2012.
- COSTA, R. V. da et al. Incidência de *Colletotrichum graminicola* em colmos de genótipos de milho. *Summa phytopathol*, v.36, n.2, p.122-128, 2010.
- GUNAWARDHANA, P. L. T. et al. A phenetic analysis of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates from selected host plants. *Ceylon Journal of Science (Biological Sciences)*, Sri Lanka, v. 38, n. 2, p. 57-66, 2009.
- KOTZ, TAILENE ELISA et al. Enxertia em figueira 'Roxo de Valinhos' por borbulhia e garfagem. *Bragantia*, Campinas, v.70, n.2, p.344-348, 2011.
- LEONEL, S.; TECCHIO, M. A. Épocas de poda e uso da irrigação em figueira 'Roxo de Valinhos' na região de Botucatu, SP. *Bragantia*, Campinas, v. 69, n. 3, p. 571-580, 2010.
- MAIORANO, J. A. Figo. in Donadio, L. C. et al.(Org.). *História da fruticultura paulista*. p. 173-184. SBF. Jaboticabal: 2010.
- PHOULIVONG, S. et al. *Colletotrichum gloeosporioides* is not a common pathogen on tropical fruits. *Fungal Diversity*, Indonesia, v. 44, n.1, p. 33-43, 2010.
- SERRA, I.M.R.S. et al. Diversidade fenotípica e patogênica de *Colletotrichum*, agente causal da antracnose em mangueira, e identificação de espécie. *Summa phytopathol*, v.37, n.1, p.42-51, 2011.
- SOARES, A. R.; LOURENÇO, S. A.; AMORIM, L. Infecção de goiabas por *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum acutatum* sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento. *Tropical plant pathol*, v.33, n.4, p.265-272, 2008.
- SOUSA, R. M. S, DE; SERRA, I. M. R. de S.; MELO, T. A. Efeito de óleos essenciais como alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, em pimenta. *Summa phytopathol*, v.38, n.1, p.42-47, 2012.