



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**



**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE ISOLADOS DE  
*Lasiodiplodia theobromae* PROVENIENTES DO ESTADO DE  
ALAGOAS**

**CINTIA CAROLINE ALVES DE ALMEIDA**

Trabalho de conclusão de curso  
apresentado ao Centro de Ciências  
Agrárias como parte dos requisitos  
para obtenção do título de Agrônomo.

**RIO LARGO - ALAGOAS  
2010**

**CINTIA CAROLINE ALVES DE ALMEIDA**

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE ISOLADOS DE  
*Lasiodiplodia theobromae* PROVENIENTES DO ESTADO DE  
ALAGOAS**

**Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Centro de Ciências  
Agrárias como parte dos requisitos  
para obtenção do título de  
Agrônomo.**

**Prof<sup>a</sup>. Dra. Iraíldes Pereira Assunção  
(ORIENTADORA)**

**RIO LARGO – ALAGOAS  
2010**

Aos familiares e amigos

Aos meus pais, meu esposo, irmãos, avós, tios e amigos, pelo companheirismo, amor, compreensão e total apoio nessa caminhada, dedicados desde o início, possibilitando a realização desse trabalho e contribuindo nos ensinamentos da vida.

**OFEREÇO**

À minha família

Aos meus pais, Clóvis Almeida e Marileide Alves de Almeida, meu esposo, Lucas Henrique Alves, meu filho João Lucas e aos meus irmãos, Cláudia, Carlos e Clóvis Júnior pela total obstinação, carinho, amor e esforço para que eu me tornasse a pessoa que sou hoje.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, em primeiro lugar, por ter me concedido a vida, me dado paciência e discernimento para enfrentar os percalços existentes nessa longa estrada.

Aos meus pais, meu esposo, meus irmãos, pelo companheirismo, compreensão, apoio e força durante toda essa caminhada em minha formação.

Ao Centro de Ciências Agrárias nas pessoas dos seus professores pela contribuição em seus ensinamentos, carinho e dedicação com seus alunos.

Ao Laboratório de Fitopatologia, esse que me acolheu como bolsista e também como um dos seus contribuintes para a elaboração de suas atividades, e pela grande contribuição em meus conhecimentos práticos e teóricos.

A professora Iraíldes Pereira Assunção, pela oportunidade, orientação, amizade e conhecimento transmitido nesse tempo em que eu participei das atividades realizadas no Laboratório de Fitopatologia, contribuindo de forma fundamental para a minha formação profissional.

Ao professor Gaus Silvestre de Andrade Lima coordenador do Laboratório de Fitopatologia Molecular, pelo apoio e respeito.

As professoras Maria de Fátima, Edna Peixoto e a pesquisadora Marissônia Noronha de Araújo pela amizade e ensinamentos na área de pesquisa.

Aos meus amigos e familiares Edilaine Alves, Luciana Gusmão, Édypo Jacob, Mariote Netto, Érica, Laís, Liliane Dias, Geórgia Peixinho e Lucas Henrique, pelo apoio, respeito, dedicação e amizade em todo esse tempo de convívio, que foram de fundamental importância para a realização desse trabalho.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1. Características do fungo <i>Lasiodiplodia theobromae</i> .....	3
2.2. Doenças de importância econômica causadas por <i>Lasiodiplodia theobromae</i> .....	5
2.3. Controle químico.....	6
2.4. Meio de Cultura.....	7
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	9
3.1. Obtenção dos isolados de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> .....	9
3.2. Patogenicidade dos isolados de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> .....	9
3.3. Influência de meios de cultura sobre o crescimento micelial de isolados de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> .....	10
3.4. Influência de meios de cultura sobre a produção e fertilidade de picnídios, e características culturais de isolados de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> .....	10
3.5. Sensibilidade “in vitro” de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> a diferentes fungicidas.....	11
3.5.1. Eficiência “in vitro” de alguns fungicidas no controle de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> .....	11
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	13
4.1. Patogenicidade dos isolados de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> .....	13
4.2. Influência de meios de cultura sobre o crescimento micelial de isolados de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> .....	14
4.3. Influência de meios de cultura sobre a produção de picnídios de isolados de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> .....	15

4.4. Influência de meios de cultura sobre a fertilidade de picnídios de isolados de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> .....	17
4.5. Influência de meios de cultura sobre as características culturais de isolados de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> .....	18
4.6. Sensibilidade “in vitro” de diferentes fungicidas na inibição do crescimento micelial de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> (in vitro).....	20
5 CONSIDERAÇÃO FINAL .....	22
6 BIBLIOGRAFIA .....	23

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Identificação dos isolados de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> .....	9
Tabela 2. Produto comercial, ingrediente ativo, formulação e modo de ação dos fungicidas utilizados nos testes de sensibilidade “in vitro” do fungo <i>Lasiodiplodia theobromae</i> (Pat.) Griffon & Maubl.....	11
Tabela 3. Taxa de crescimento micelial de vinte e cinco isolados de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> em três diferentes meios de cultura..	14
Tabela 4. Produção de picnídios de isolados de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> em diferentes meios de cultura.....	16
Tabela 5. Fertilidade de picnídios de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> em diferentes meios de cultura.....	17
Tabela 6. Características de vinte e cinco isolados de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> em relação à cor da colônia e formação de picnídios em diferentes meios de cultura.....	19
Tabela 7. Eficiência “in vitro” de fungicidas para o controle de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> (Pat.) Griffon & Maubl., em condições de laboratório.....	20

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Fruto de graviola apresentando polpa deteriorada e estruturas de reprodução do fungo *Lasiodiplodia theobromae*.....13
- Figura 2. Formação de picnídios em colônia pura de *Lasiodiplodia theobromae*.....16
- Figura 3. Estruturas de reprodução de *Lasiodiplodia theobromae*. Esporos maduros (septados,escuros),esporos jovens (sem septos, hialinos).....18

## RESUMO

**ALMEIDA, C. C. A.** Caracterização morfológica de isolados de *Lasiodiplodia theobromae* Provenientes do Estado de Alagoas. Rio Largo. UFAL. CECA 2010. (Trabalho de Conclusão de Curso).

*Lasiodiplodia theobromae* é um fungo típico de regiões tropicais e subtropicais. Tem sido responsável por doenças em inúmeras plantas cultivadas causando perdas significativas de produção, notadamente no Nordeste brasileiro. Este trabalho teve como objetivo caracterizar vinte e cinco isolados de *L. theobromae*, obtidos de diferentes hospedeiros. Quanto ao crescimento micelial, produção e fertilidade de picnídios, aspectos morfológicos das colônias, patogenicidade dos isolados e sensibilidade a diferentes fungicidas (in vitro). Para avaliação das características morfofisiológicas foram utilizados quatro diferentes meios de cultura (BDA, FA, AvA e V-8). Nos testes de sensibilidade do patógeno a fungicidas (in vitro), foram utilizados dois fungicidas sistêmicos (tiofanato metílico e carbendazim) e dois fungicidas protetores (mancozeb/oxicloreto de cobre e mancozeb) em diferentes concentrações (0; 1; 10 e 100 µg de i.a./mL), sendo a concentração (0) – testemunha. Os isolados variaram em todas as características estudadas. O meio V-8 promoveu maior velocidade de crescimento dos isolados. Os meios aveia-ágar e V-8 proporcionaram a maior produção e fertilidade de picnídios respectivamente, sobressaindo-se o isolado obtido de pinha. Em relação à coloração da colônia houve grande variação, predominando a coloração cinza a negro. Quanto à formação dos picnídios verificou-se que a maioria dos isolados formaram tais estruturas. Em relação à sensibilidade aos fungicidas utilizados, os fungicidas tiofanato metílico, carbendazim e Mancozeb/oxicloreto de cobre concentração de 100 µg do i.a./mL, foram capazes de inibir o crescimento micelial dos vinte e cinco isolados avaliados.

Palavras-chave: **fisiologia, patogenicidade.**

# 1. INTRODUÇÃO

A podridão seca causada pelo fungo *Lasiodiplodia theobromae* tem se tornado uma doença comum em várias culturas de expressão econômica, principalmente na região do nordeste brasileiro, onde encontra-se constantemente associada ao declínio de tradicionais plantios comerciais de fruteiras, bem como a perdas de pós-colheita (Junqueira et al., 1996).

Até recentemente, considerado como um patógeno ocasional de plantas estressadas, o fungo *L. theobromae* vem se constituindo em um sério problema para os produtores do Nordeste brasileiro e mesmo para os de outras regiões agrícolas do Brasil (<http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/arquivos/artigo>).

Esse patógeno é capaz de infectar uma ampla gama de plantas hospedeiras, isoladamente ou em associação com outros patógenos. Em torno de 500 espécies de plantas, sobretudo espécies tropicais, já foram descritas como hospedeiras de *L. theobromae*, com destaque para: pinheira, mangueira, coqueiro, cacaueteiro, gravioleira, videira, mamoeiro, guaranazeiro, cajueiro, mamoneira, entre outras. Trata-se de um fungo oportunista, geralmente associado a plantas com déficit hídrico e deficiência nutricional. O controle da doença é difícil em razão da enorme gama de hospedeiros apresentada pelo fungo, sendo então indicada a adoção de uma série de medidas de controle (Pereira et al., 2006, Rodrigues et al., 2004, Freire; Cardoso, 2003).

Plantas infectadas por este patógeno, podem apresentar diferentes sintomas, incluindo seca-descendente (die-back), cancro em ramos, caules e raízes, lesões em estacas, folhas, frutos e sementes, além de incitar a morte de mudas e enxertos. Sua capacidade de infectar frutos coloca-o dentre os mais eficientes patógenos disseminados por meio de sementes e causadores de problemas pós-colheita (Freire et al., 2004).

Essa habilidade tem sido confirmada em estudos conduzidos pela Embrapa Agroindústria Tropical com as culturas da gravioleira, ateira, sapotizeiro e cajueiro. Outras culturas economicamente importantes, tais como a aceroleira e o maracujazeiro, além de outras bastante conhecidas, como a cirigueleira, a cajaraneira e o umbuzeiro, já foram também relatadas como hospedeiras desse patógeno.

O presente trabalho teve como principal objetivo a caracterização morfológica de 25 isolados de *L. theobromae* coletados de diferentes hospedeiros.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Características do fungo *Lasiodiplodia theobromae*

O fungo *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon; Maubl. é cosmopolita, polífago e oportunista, com pouca especialização patogênica, normalmente está associado a processos patogênicos em plantas com deficiência nutricional, estressadas e com ferimentos naturais ou provocados por insetos, pássaros ou pelo próprio homem, através de práticas culturais (Tavares et al., 1994). É um patógeno típico de regiões tropicais e subtropicais. Até os anos 80 era considerado um patógeno fraco. Contudo, nos últimos anos, vem se tornando importante para várias culturas, causando prejuízos em numerosas espécies vegetais cultivadas de grande expressão econômica (Pereira et al., 2006).

Além dos tecidos infectados, *L. theobromae* também sobrevive de forma saprofítica, na goma exsudada em troncos lenhosos infectados e em restos culturais no solo. A disseminação é feita pelo vento, água, semente, insetos, animais silvestres e pelo homem, via instrumentos agrícolas (Cardoso; Freire, 2002) a. Trata-se de um fungo que pode penetrar na planta através dos ferimentos causados por outros patógenos ou por aberturas naturais.

Em plantas adultas, os sintomas começam pelos ponteiros como uma podridão seca. A doença atinge os ramos e as gemas vegetativas causando hipertrofias e exsudação de goma seguida de intensa desfolha e de morte progressiva no sentido da extremidade para a base. Nos ramos mais grossos e troncos, a infecção inicia a partir da superfície externa do lenho, principalmente nas bifurcações e rachaduras naturais da casca. Com o progresso da doença, observam-se lesões escuras que penetram no lenho, causando o bloqueio do fluxo de seiva e posterior morte a partir de área lesionada até o topo da planta (Cardoso et al., 2002) b.

Em mudas o patógeno penetra através de aberturas naturais do pecíolo das folhas mais novas, acompanhada pelo crescimento micelial do fungo. Essas folhas tornam-se muitas e quebradiças, resultando em morte descendente da muda infectada (Cardoso; Freire, 2002; Cardoso et al., 2002).

Nos frutos, a penetração de *L. theobromae* se dá pelo pedúnculo ou ferimentos, formando lesões escuras na base, com bordos bem definidos, posteriormente, os tecidos lesionados podem rachar, expondo a polpa do fruto. Em condições de temperatura e umidade elevadas, observa-se na parte central das lesões uma grande quantidade de minúsculas pontuações escuras, que são as estruturas de reprodução do fungo. Esses mesmos sintomas

podem ser observados em pós-colheita, em frutos armazenados (Junqueira et al., 1996; Cardoso; Freire, 2002).

Em cultura pura de BDA, as colônias de *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl., são acinzentadas a negras, com abundante micélio aéreo e ao reverso da cultura em placa de Petri são foscas ou negras. Formam picnídios simples ou compostos, frequentemente agregados, estromáticos, ostiolados, subovóides para elipsóides – oblongos, com parede espessa e base truncada. As dimensões destes conídios variam entre (18 – 30) x (10 – 15)  $\mu\text{m}$ . Os conídios maduros de *L. theobromae* tornam-se uniseptados e de coloração castanho – amarelados, longitudinalmente estriados. As paráfises quando presentes são hialinas, cilíndricas, algumas vezes septadas. Em frutos infectados, os sintomas são caracterizados pela ocorrência de mancha circular escura, de diâmetro variável geralmente na região do pedúnculo, os picnídios são imersos, tornando-se erupentes. São estiolados e frequentemente pilosos e podem apresentar extrusão de conídios com aspecto de uma massa preta (Menezes et al., 1997).

A variação nas características morfológicas e fisiológicas entre isolados de *L. theobromae* provenientes de diferentes hospedeiros e regiões geográficas tem sido observada por vários autores (Ram, 1993, Moraes et al., 1995, Menezes et al., 1997).

Tradicionalmente, os fungos são classificados de acordo com suas características morfológicas, no entanto esse método pode não ser completamente seguro porque algumas diferenças observadas nessas características podem ser devidas à instabilidade do isolado ou devido às condições de cultivo. Além do mais, nem sempre essas características estão relacionadas com a patogenicidade dos mesmos. Similarmente, análises filogenéticas não podem ser baseadas unicamente nessas características, devido à simplicidade destes, se comparadas a animais e plantas. Para minimizar o problema estudos visando à integração de métodos devem ser considerados. Portanto frequentemente resultados baseados em morfologia devem ser completados com outros métodos. Como características fisiológicas, pois esse é outro critério que evidencia a variabilidade de uma população ou ainda, podem-se utilizar métodos baseados em características genéticas, sendo este um método mais acurado.

Estes estudos de caracterização morfofisiológica e genética são fundamentais para que se identifique corretamente e se conheça a amplitude da variabilidade existente entre isolados de um determinado patógeno. Considerando que isolados de *L. theobromae* originados de diferentes áreas e diferentes hospedeiros apresentam variações nas características morfológicas e fisiológicas, faz-se necessário o conhecimento da variabilidade

genética da população do patógeno a fim de auxiliar na definição de estratégias de controle aliadas aos programas de melhoramento genético.

## **2.2. Doenças de importância econômica causadas por *Lasiodiplodia theobromae***

A seca dos ramos ou Botriodiplodiose causada pelo fungo *L. theobromae* (Pat.) foi descrita no Brasil em 1991, em Jales, SP. Caracteriza-se pelo definhamento progressivo que culmina com a morte da planta. Fazendo-se um corte transversal no ramo afetado, observam-se áreas mortas no lenho de coloração mais escura, em forma da letra “V”. Os ramos infectados morrem da ponta para a base, adquirindo uma coloração marrom a cinza. Na casca dos ramos e esporões doentes, aparecem pontuações escuras formadas pelos picnídios do patógeno. Os picnídios também aparecem sob a casca dos cancrios, que se desenvolvem nos ramos e troncos doentes (Ribeiro et al., citado por Rodrigues, 2003).

Esse patógeno é responsável por doenças importantes como a morte descendente do cacaueteiro (*Theobromae cacao* L.), mangueira (*Mangifera indica* L.), coqueiro (*Cocos nucifera* L.), cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), graviola (*Annona muricata* L.), mamoneira (*Ricinus communis* L.), guaranazeiro (*Paullinia cupana* Ducke) e da pinha (*Annona squamosa* L.) dentre outras (Pereira et al., 2006, Rodrigues et al., 2004, Freire; Cardoso, 2003). Outros sintomas apresentados são murcha, podridão basal de frutos, cancro de tronco, e de ramos (Tavares, 2002).

O tipo de dano e extensão dos prejuízos causados por *L. theobromae* (Pat.), são variáveis em função da espécie vegetal parasitada e incluem deterioração de sementes, “damping off”, murcha, seca, definhamento, formação de cancro em caules de espécies arbóreas, podridão de frutos antes e após colheita, podridão de tubérculos, raízes e frutos armazenados, além de outros (Kranz et al., Adisa, citado por Rodrigues, 2003).

Muitos frutos tropicais comestíveis tais como goiaba, banana e manga, podem ser deteriorados pela ação deste fungo em pré e pós-colheita (Adisa,; Mandal; Dasgupta, citado por Rodrigues, 2003). Podem ser também deteriorados em pré e pós-colheita, mandioca, inhame e batata doce; nestes casos a infecção tem início através de ferimentos, principalmente pela cicatriz remanescente da ligação com a parte aérea do vegetal (Kranz et al., citado por Rodrigues, 2003).

Durante inspeções realizadas em fevereiro de 1992 na Venezuela, em plantações de maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sinf. Forma *flavicarpa* Degener), foram encontradas numerosas plantas cujas ramas apresentaram sintomas de morte regressiva.

Observações posteriores por outros autores revelaram que a enfermidade denominada “morte regressiva”, está amplamente difundida na Venezuela, pois foi apresentada com maior influência durante o período de seca (janeiro-março), ocasionando uma sensível diminuição nos rendimentos. Os ramos enfermos apresentaram-se com lesões branco-acinzentadas com uma ligeira margem marrom claro. A casca dos ramos mortos se desprendia com facilidade e a superfície mostrava numerosos picnídios escuros, subepidérmicos e erumpentes. No interior dos ramos localizavam-se micélios profundos de aspecto verde-acinzentado. Os picnídios continham paráfises, células conidiógenas e conídios com características típicas de *L. theobromae* (Pat.) Griffon; Maubl.

A sua capacidade de infectar frutos coloca-o dentre os mais eficientes patógenos disseminados por meio de sementes e causadores de doenças de pós-colheita, o que vem proporcionando a disseminação deste fungo e o aparecimento de doenças como a podridão-seca-da-haste em anonáceas. Sementes obtidas de frutos de graviola infectadas podem apresentar percentuais de transmissão variando de 50 a 100% (Cardoso et al., 2002).

As perdas decorrentes da podridão seca em pomares são, em primeira instância, redução da produtividade das plantas e, em uma fase posterior, a redução da longevidade produtiva do pomar, pela redução do número de plantas e ainda, causar perdas expressivas de frutos na pós-colheita (Junqueira et al., 1996)

O controle da doença é difícil em razão da enorme gama de hospedeiros apresentada pelo fungo. O controle químico não tem demonstrado eficiência, sendo então indicada a adoção de uma série de medidas adicionais de controle (Pereira et al., 2006, Tavares, 1995). No controle de frutos na pós-colheita recomenda-se o tratamento hidrotérmico à temperatura de 55° C durante cinco minutos aliada ao controle com fungicidas (Tavares et al., citado por Pereira, 2006; Rodrigues et al., 2004).

### **2.3. Controle químico**

Os fungicidas químicos podem ser aplicados como erradicantes, imunizantes e protetores. Um fungicida protetor é aplicado para as plantas ou outros materiais antes de surgir o patógeno e freqüentemente funcionaram apenas após a germinação do esporo do fungo. Um fungicida erradicante mata os patógenos já presentes nas plantas e/ou outros substratos materiais (Lilly & Barnett, citado por Rodrigues, 2003).

A determinação da fungitoxicidade “in vitro” se constitui numa fase preliminar da seleção de produtos químicos. Os produtos potencialmente eficientes devem receber uma abordagem prática que simule as condições de uso do composto. A presente técnica de

avaliação da fungitoxicidade, através da inibição dos 16 crescimentos linear do micélio em ágar, tem sido bastante empregada (Bollen; Fuchs; Edgington et al.; Menten et al., citado por Rodrigues, 2003).

Tavares et al. (1994) constataram que no Vale do São Francisco, Petrolina, PE, as doenças encontravam-se intensificadas com a implantação intensiva de cultivos. O fungo *Botryodiplodia theobromae* apresentou sérios problemas em algumas fruteiras, como mangueira e videira, gerando demandas de pesquisas já realizadas e outras a complementar, como testes de vários produtos para que venha compor alternâncias quando no tratamento químico, a fim de não oferecer condições de resistência ao patógeno.

Testes de fungicidas “in vitro” foram feitos e em ordem decrescente de eficiência dos produtos foram obtidos os seguintes resultados: Tebuconazole – 0,01 g/20 mL; Cyproconazole – 1,5 g/10 mL; Bitertanol – 0,02 g/ 10 mL; Trifenil Acetato de Estanho – 0,012 g/ 10 mL; Metalaxil + Mancozeb – 0,03 g/ 10 mL; Iprodione – 0,012 g/ 10 mL; Thiram – 0,05 g/ 10 mL; Maneb – 0,02 g/10 mL; Cymoxanil – 0,025 g/ 10 mL; Fentim Hydroxide – 0,0125 g/ 10mL; Imibenconazole – 0,01 g/ 10 mL; Enxofre – 0,04 g/ 10 mL; Captam – 0,024 g / 10 mL; Mancozeb – 0,02 g /10 mL; Chlorothalonil – 0,014 g /10 mL; Fosetil-al – 0,016 g/ 10 mL; em que sobressaíram os oito primeiros, ficando os quatro últimos sem nenhum halo de inibição.

Na busca de controle alternativo de fungos fitopatogênicos, verificou-se a eficiência de plantas medicinais no controle de *Lasiodiplodia theobromae* “in vitro”. Foram testadas tinturas de juá (*Ziziphus joazeiro* Mart.), pitanga (*Eugenia uniflora* L.), e romã (*Punica granatum* L.) e o extrato bruto de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) nas concentrações de 5%, 10%, 15%, 20% e sumo de babosa (*Aloe vera* L.) a 5%, 10% e 15%. A eficiência foi avaliada pela determinação da percentagem de inibição do crescimento micelial “in vitro” em BDA. O juá a 20% inibiu em 62% o crescimento de *Lasiodiplodia theobromae* (Feitosa et al., citado por Rodrigues, 2003).

#### **2.4. Meio de Cultura**

Os meios de cultura são substâncias ou soluções que proporcionam o desenvolvimento de um organismo ou mais. Há uma grande quantidade de meios utilizados no isolamento, na manutenção e na propagação de culturas puras de bactérias e de fungos fitopatogênicos. Um meio adequado para o desenvolvimento de fitopatógenos deve incluir as fontes disponíveis de carbono, de nitrogênio, de sais inorgânicos, e, dependendo do organismo, até mesmo de vitaminas e de outros fatores de crescimento.

A maioria dos meios de cultura se enquadra em três categorias; o sintético, cuja composição e concentração química são conhecidos; o semi-sintético, que se assemelha aos meios sintéticos quanto a possuírem um conjunto conhecido de ingredientes, porém apresentam a diferença de que, pelo menos alguns dos ingredientes são de composição desconhecida ou variável; e o meio natural, que é composto, parcialmente ou integralmente, por produtos naturais, como infusões ou extratos de materiais de origem vegetal ou animal.

De um modo geral, os meios pobres em carboidratos e ricos em substâncias de origem vegetal induzem, ou aumentam, a esporulação de fungos fitopatogênicos. Os substratos sem fontes de nutrientes, como o ágar-água, são comumente usados quando se deseja que o desenvolvimento do patógeno em estudo se dê a partir dos nutrientes presentes no tecido contaminado, do qual se está tentando isolar esses organismos (Fernandez, citado por Rodrigues, 2003).

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal de Alagoas no Centro de Ciências Agrárias (UFAL/CECA). No período de julho de 2007 a julho de 2008.

#### 3.1. Obtenção dos isolados de *Lasiodiplodia theobromae*

Foram obtidos 25 isolados de *L. theobromae*, todos procedentes do Estado de Alagoas. A partir dos tecidos, apresentando sintoma, foram feitos isolamentos mediante plaqueamento da região de transição em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar). Posteriormente, foi realizada a confirmação dos isolados de *L. theobromae* mediante observação em microscópio óptico e observação das estruturas de reprodução do patógeno.

**Tabela 1.** Identificação dos isolados de *Lasiodiplodia theobromae*

Isolado	Hospedeiros	Isolado	Hospedeiros
01	Abacate ( <i>Persea americana</i> )	14	Laranja 2 ( <i>Citrus sinensis</i> )
02	Chacrona ( <i>psycotria viridis</i> )	15	Laranja Pêra ( <i>Citrus sinensis</i> )
03	Coco ( <i>Cocos nucifera</i> L.)	16	Limão ( <i>Citrus sinensis</i> )
04	Coco I ( <i>Cocos nucifera</i> L.)	17	Mamão ( <i>Carica Papaya</i> )
05	Coco GI ( <i>Cocos nucifera</i> L.)	18	Manga 1 ( <i>Mangifera indica</i> L.)
06	Coco GII ( <i>Cocos nucifera</i> L.)	19	Manga 2 ( <i>Mangifera indica</i> L.)
07	Coco B <sub>2</sub> ( <i>Cocos nucifera</i> L.)	20	Maracujá ( <i>Passiflora</i> sp.)
08	Coco B <sub>3</sub> ( <i>Cocos nucifera</i> L.)	21	Pião ( <i>Jatropha curcas</i> L.)
09	Embaúba ( <i>Cecropia pachystachya</i> )	22	Pinha 1 ( <i>Annona squamosa</i> L.)
10	Ficus ( <i>Ficus benjamina</i> )	23	Pinha 2 ( <i>Annona squamosa</i> L.)
11	Graviola I ( <i>Annona muricata</i> L.)	24	Pinha 3 ( <i>Annona squamosa</i> L.)
12	Graviola Y ( <i>Annona muricata</i> L.)	25	Sucupira ( <i>Bowdichia nitida</i> )
13	Jaca ( <i>Artocarpus integrifolia</i> L.)		

#### 3.2. Patogenicidade dos isolados de *Lasiodiplodia theobromae*

Os testes de patogenicidade foram realizados nos diferentes hospedeiros. A partir da cultura pura do fungo, cultivados por sete dias em BDA em temperatura ambiente. A inoculação foi feita através da deposição de um disco de DBA contendo o crescimento micelial de *L. theobromae* sobre a superfície dos frutos ou folhas com ferimento. Os frutos ou folhas foram mantidos em câmara úmida por 48 horas. Após quatro dias, os primeiros

sintomas foram observados principalmente quando a inoculação foi realizada em frutos pós-colheita.

### **3.3. Influência de meios de cultura sobre o crescimento micelial de isolados de *Lasiodiplodia theobromae***

A partir de culturas puras de vinte e cinco isolados de *L. theobromae*, mantidos em placas de Petri contendo meio de cultura BDA, sob regime de luz de 12 h de fotoperíodo com cinco dias de idade, foram retirados das bordas da colônia, discos de aproximadamente 5 mm de diâmetro contendo estruturas dos isolados e depositados no centro da placa contendo 20 mL dos seguintes meios de cultura: BDA (batata, 200g; dextrose, 20g; ágar 17g; água destilada, 1000 mL); AvA (flocos de aveia, 75g; ágar, 17g; água destilada, 1000 mL); FA (fubá de milho, 60g; ágar, 17g; água destilada, 1000 mL); V-8 (suco V-8, 200 mL; ágar, 17g; CaCO<sub>3</sub>, 3g; ágar, 17g; água destilada, 800 mL). Logo após incubados em estufa B.O.D. a 25 ± 1° C com alternância de luz/escuro de 12h.

A avaliação do crescimento micelial consistiu da leitura, a cada 24 h, do diâmetro da colônia em dois sentidos dimetralmente opostos, definindo-se uma média para cada repetição. As leituras foram concluídas quando o crescimento da colônia cobriu completamente o diâmetro da placa em um dos tratamentos, determinando-se a velocidade média de crescimento do fungo, através da fórmula adaptada de Lilly & Barnett (1951).

$$V_{mc} = \frac{C_{t_2} - C_{t_1}}{T} \quad \text{onde,}$$

V<sub>mc</sub> = velocidade média de crescimento;

C<sub>t<sub>1</sub></sub> = crescimento no primeiro intervalo de tempo;

C<sub>t<sub>2</sub></sub> = crescimento no segundo intervalo de tempo;

T = intervalo de tempo considerado.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial 25 x 4 (isolados x meios de cultura) em um total de 100 tratamentos com 4 repetições cada.

### **3.4. Influência de meios de cultura sobre produção e fertilidade de picnídios e características culturais de isolados de *Lasiodiplodia theobromae***

A produção de picnídios foi determinada através da contagem dessas estruturas sob lupa estereoscópica, onde foram contados todos os picnídios formados em cada um dos isolados e meios, após 15 dias de incubação. Para determinar a fertilidade foram considerados férteis os picnídios que apresentaram exsudatos de esporos na sua superfície.

As características culturais foram avaliadas, após 15 dias de incubação, considerando-se o aspecto visual das colônias quanto à cor e modo de formação dos picnídios, se isolados ou dispersos, se submersos ou superficiais.

### 3.5. Sensibilidade “in vitro” de *Lasiodiplodia theobromae* a diferentes fungicidas

Foi avaliada a eficiência de diferentes fungicidas na inibição do crescimento micelial de vinte e cinco isolados de *L. theobromae*. Soluções estoque (1.000 µg do i.a./mL) dos fungicidas sistêmicos (tiofanato metílico e carbendazim) e fungicidas protetores (Mancozeb/oxicloreto de cobre e mancozeb) foram diluídas em água esterilizada para atingir as seguintes concentrações: 0(testemunha);1;10 e 100 µg de i.a./mL em meio de cultura.

**TABELA 2** - Produto comercial, ingrediente ativo, formulação e modo de ação dos fungicidas utilizados nos testes de sensibilidade “in vitro” do fungo *Lasiodiplodia theobromae*

Produto Comercial	Ingrediente Ativo	Formulação	Modo de Ação
Cercobin	Tiofanato metílico	PM	Sistêmico
Cuprozeb	Mancozeb/ Oxicl.de Cobre	PM	Protetor
Derosal	Carbendazin	SC	Sistêmico
Manzate	Mancozeb	PM	Protetor

PM = Pó molhável; SC= Solução concentrada

Discos de cultura dos isolados em BDA, de 5 mm de diâmetro, obtidos das bordas das colônias com cinco dias de idade, foram repicados para o centro das placas de cada tratamento. A seguir, incubados a 25° C com alternância de luz/escuro de 12h. Após cinco dias, foi avaliado o diâmetro das colônias nos dois sentidos ortogonais e calculado a porcentagem de inibição do crescimento micelial em relação à testemunha.

O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial 25 x 4 (isolados x fungicidas) em um total de 100 tratamentos com 4 repetições cada.

#### 3.5.1. Eficiência “in vitro” de alguns fungicidas no controle de *Lasiodiplodia theobromae*

Para a avaliação da eficiência “in vitro” dos diferentes fungicidas testados, utilizou-se a escala descrita por Edgington et al. (1971): DE50 = < 1 mg/ml → Altamente eficiente; DE50

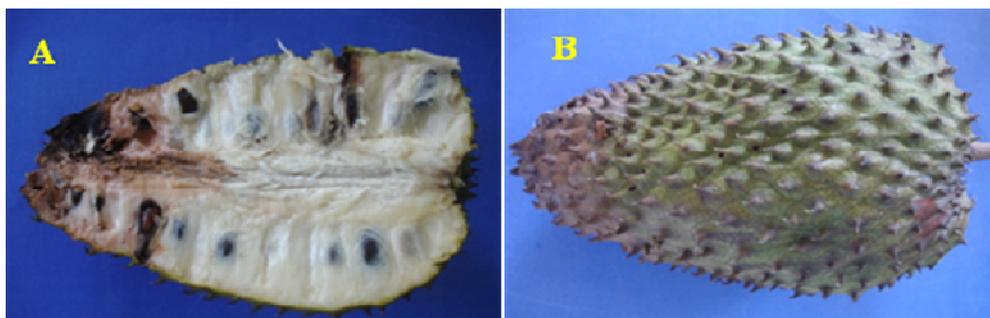
= 1 – 10 mg/ml → Moderadamente eficiente; DE50 = 10 - 50 mg/ml → Pouco eficiente e  
DE50 = > 50 mg/ml → Ineficiente.

$$\text{PIC} = \frac{\text{Crescimento radial testemunha} - \text{Crescimento radial tratamento}}{\text{Crescimento radial testemunha}} \times 100$$

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Patogenicidade dos isolados de *Lasiodiplodia theobromae*

Os isolados de *L. theobromae* estudados mostraram-se patogênicos aos seus hospedeiros quando inoculados em fruto sadio de graviola, o qual exibiu sintomas entre 48 e 72 h após a inoculação. Foram observadas lesões escuras no ponto de inoculação, com bordos bem definidos, posteriormente, a infecção provocou rachaduras expondo a polpa do fruto. No interior do fruto, a polpa apresentou-se completamente deteriorada. Em condições de temperatura e umidade elevadas, pode ser observada na parte central das lesões uma grande quantidade de minúsculas pontuações escuras, que são as estruturas de reprodução do fungo. Esses mesmos sintomas podem ser observados em pós-colheita, em frutos armazenados (Junqueira et al., 1996; Cardoso; Freire, 2002).



**Fig. 1 A** Polpa completamente deteriorada

**Fig. 1B** Parte central das lesões (estruturas de reprodução do fungo)

A partir dos tecidos apresentando sintomas (frutos ou folhas) fez-se o reisolamento do fungo em meio BDA, onde foi possível observar características morfológicas idênticas ao isolado original. Em observações microscópicas foi possível observar as estruturas de reprodução do patógeno em forma de picnídios escuros, estiolados, conidiosporos quando jovens, hialinos e unicelulares e quando adultos, escuros, ovóides e alongados (Menezes & Oliveira, 1993).

Houve variação na patogenicidade de isolados de diferentes hospedeiros e até mesmo entre isolados da mesma cultura.

#### **4.2. Influência de meios de cultura sobre o crescimento micelial de isolados de *Lasiodiplodia theobromae***

Os isolados variaram em todas as características avaliadas. Em relação ao crescimento micelial de isolados de *L. theobromae* em diferentes meios de cultura, verificou-se que o fitopatógeno utilizou de maneira mais eficiente o meio V-8 seguido do meio BDA. O meio V-8 proporcionou, de certa forma, maior velocidade de crescimento micelial para todos os isolados, destacando-se os isolados 03, 05, 08, 18, 20 e 23, os quais apresentaram as maiores velocidades de crescimento. Enquanto que no meio BDA, os isolados 05, 07, 10, 11, 19 e 24 destacaram-se em relação aos demais isolados, porém não diferindo estatisticamente entre si. As menores taxas de crescimento foram observadas nos isolados 02, 09, 23 e 25 quando foram colocados sobre o meio BDA e para os isolados 09, 14 e 21 quando colocados sobre o meio V8 (Tabela 3).

De modo geral, o meio V-8 foi mais eficaz para o crescimento micelial para a maioria dos isolados estudados, porém não diferindo estatisticamente do meio BDA. Enquanto os meios AvA e FA foram menos aproveitados pela maioria dos isolados, os quais apresentaram as menores taxas de crescimento micelial quando colocados sobre os mesmos. (Tabela 3)

A variação entre isolados, referente ao aproveitamento dos meios de cultura, também foi verificada nos trabalhos de Sousa *et al.* (1979), Ram (1993) e Lima (1996). Os meios naturais fornecem certas substâncias que funcionam como fatores estimuladores do crescimento, Lilly & Barnett (1951). Os valores relativamente altos para velocidade média de crescimento de alguns isolados nos meios V-8 e BDA demonstram uma adequação do substrato às exigências fisiológicas do fungo (Pereira et al.,2006).

**TABELA 3** - Taxa de crescimento micelial de vinte e cinco isolados de *Lasiodiplodia theobromae* em quatro diferentes meios de cultura.

<b>Taxa de crescimento micelial (cm/dia)*</b>				
<b>Meios de Cultura**</b>				
<b>Isolados</b>	<b>BDA</b>	<b>FA</b>	<b>AvA</b>	<b>V- 8</b>
1	0,41 efg	0,14 abc	0,25 abcdef	0,35 abcd
2	0,29 abcde	0,11 ab	0,12 ab	0,34 abcd
3	0,44 efg	0,18 abc	0,25 abcdef	0,55 g
4	0,19 ab	0,23 abc	0,33 defg	0,32 abc
5	0,52 g	0,21 abc	0,20 abcd	0,51 efg
6	0,35 cdef	0,23 abc	0,34 defg	0,31 abc
7	0,52 g	0,23 abc	0,43 g	0,38 abcde
8	0,39 defg	0,24 bc	0,38 fg	0,54 fg
9	0,19 ab	0,08 a	0,11 a	0,28 ab
10	0,47 fg	0,24 bc	0,31 cdefg	0,39 abcdef
11	0,47 fg	0,20 abc	0,29 cdefg	0,42 bcdefg
12	0,24 abcd	0,19 abc	0,34 defg	0,42 bcdefg
13	0,34 bcdef	0,10 ab	0,29 cdefg	0,35 abcd
14	0,39 defg	0,11 ab	0,22 abcde	0,25 a
15	0,43 efg	0,14 abc	0,36 defg	0,37 abcde
16	0,24 abcd	0,09 ab	0,21 abcde	0,32 abc
17	0,40 efg	0,28 c	0,38 fg	0,29 ab
18	0,44 efg	0,28 c	0,42 g	0,48 defg
19	0,49 fg	0,25 bc	0,36 efg	0,29 ab
20	0,42 efg	0,24 bc	0,36 efg	0,45 cdefg
21	0,42 efg	0,12 ab	0,16 abc	0,26 a
22	0,21 abc	0,21 abc	0,38 fg	0,36 abcde
23	0,17 a	0,22 abc	0,26 bcdef	0,43 bcdefg
24	0,44 efg	0,21 abc	0,36 efg	0,28 ab
25	0,15 a	0,15 abc	0,35 defg	0,32 abc

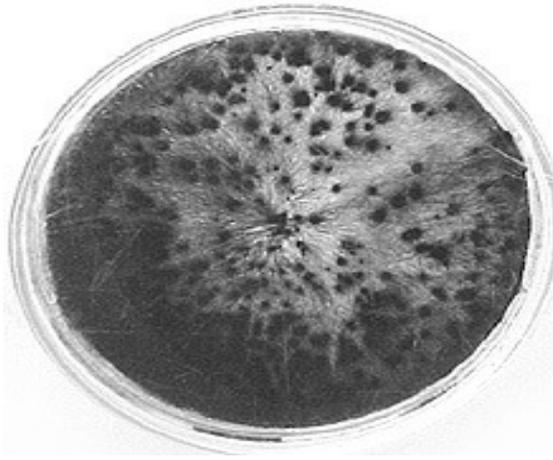
CV = 19,53

\*Médias de quatro repetições por tratamento. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

\*\*BDA = batata-dextrose-ágar; FA = fubá de milho – ágar; AvA = flocos de aveia – ágar; V-8 = suco V-8 – CaCo<sub>3</sub> – ágar.

#### 4.3. Influência de meios de cultura sobre a produção de picnídios de isolados de *L. theobromae*

Os resultados mostraram significativa variação dos isolados quanto à produção e fertilidade de picnídios nos diferentes meios de cultura ( Tabelas 3 e 4 ). O melhor meio de cultura para a produção de picnídios para a maioria dos isolados foi AvA, seguido por BDA, FA e V-8.



**Figura 2.** Formação de picnídios em colônia pura de *Lasiodiplodia theobromae*

No meio AvA os isolados 08 e 23 apresentaram a maior produção de picnídios, e o isolado 02 a menor produção. Os isolados 07, 08 e 12, produziram mais picnídios no meio FA; o isolado 23 em AvA e BDA; o isolado 07 em FA, AvA e BDA; o isolado 04 em V-8; o isolado 08 em AvA e FA. Embora o V-8 tenha sido o melhor meio para o isolado 04, AvA pode ser utilizado também para este isolado, já que a quantidade de picnídios produzida foi igual à dos isolados 07 e 23 nesse mesmo meio.

**TABELA 4** – Produção de picnídios de isolados de *Lasiodiplodia theobromae* em diferentes meios de cultura.

Isolados	Número total de picnídios*			
	Meios de Cultura**			
	BDA	FA	AvA	V-8
01	7.00 a	17.00 ab	61.50 gh	16.75 abc
02	3.00 a	28.50 bc	14.25 a	13.00 abc
04	26.00 bc	29.25 bcd	36.50 cde	69.50 f
07	50.00 fg	53.00 f	52.50 fg	20.00 abc
08	43.75 efg	50.50 f	70.00 h	43.75 e
09	24.25 b	47.75 ef	19.25 ab	11.00 ab
12	29.25 bcd	50.75 f	27.75 abc	42.75 e
13	39.00 cdef	4.75 a	19.00 ab	37.75 de
14	24.00 b	17.50 ab	50.00 efg	7.50 a
17	41.00 defg	11.50 a	18.00 ab	24.25 bcd
18	44.50 efg	34.75 cde	27.75 abc	16.25 abc
19	31.00 bcde	39.50 cdef	42.25 def	14.25 abc
20	36.50 bcdef	42.75 def	29.50 bcd	24.75 bcd
22	46.75 fg	25.75 bc	63.00 gh	11.50 ab
23	53.50 g	28.00 bc	71.25 h	7.75 a
24	39.25 cdef	43.00 def	19.00 ab	25.50 cd

CV = 17.34

\*Médias de quatro repetições por tratamento. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

\*\*BDA = batata-dextrose-ágar; FA = fubá de milho – ágar; AvA = flocos de aveia – ágar; V-8 = suco V-8 – CaCO<sub>3</sub> – ágar.

A eficácia de AvA em relação aos outros meios de cultura testados para a produção de picnídios é confirmada pelos resultados obtidos por Alasoadoura e Lima (citado por Pereira, 2006).

#### **4.4. Influência de meios de cultura sobre a fertilidade de picnídios de isolados de *L. theobromae***

Quanto à fertilidade dos picnídios, o meio V-8 foi o melhor para a maioria dos isolados, apresentando cerca de dezesseis isolados com picnídios férteis. O meio FA apresentou picnídios férteis em onze isolados, seguido dos meios AvA com nove isolados; o meio BDA com apenas seis isolados apresentando picnídios exsudatos de esporos na sua superfície.

**TABELA 5** – Fertilidade de picnídios de *Lasiodiplodia theobromae* em diferentes meios de cultura.

Isolados	Meios de Cultura			
	BDA	FA	AvA	V - 8
01	-	-	Fe	Fe
02	-	-	-	Fe
04	Fe	Fe	-	Fe
07	-	-	Fe	Fe
08	-	-	-	Fe
09	Fe	Fe	Fe	Fe
12	-	Fe	Fe	Fe
13	-	-	-	Fe
14	-	-	Fe	Fe
17	-	-	Fe	Fe
18	-	Fe	Fe	Fe
19	-	Fe	Fe	Fe
20	Fe	Fe	-	Fe
22	Fe	Fe	Fe	Fe
23	Fe	Fe	Fe	Fe
24	Fe	Fe	Fe	Fe

Fe = férteis; (-) = não ocorreu fertilidade

A produção e fertilidade dos picnídios são variáveis em função do meio de cultura utilizado. A fertilidade é um parâmetro completamente desvinculado do número de picnídios produzidos e que o aumento na produção destas estruturas, por si só, não traduzem no potencial reprodutivo dos fungos, de modo que, ao se estudar o processo reprodutivo, torna-se de maior importância à avaliação de fertilidade, (Kurazawa; Balmer, citado por Pereira, 2006).

Em relação ao número de picnídios dos isolados de *L. theobromae*, o meio Ava favoreceu maior produção, contudo o meio V8 foi o que apresentou o maior número de picnídios férteis.



**Figura 3.** Estruturas de reprodução de *Lasiodiplodia theobromae*. Esporos maduros (septados, escuros), esporos jovens (sem septos, hialinos).

**Fonte:** Rodrigues, 2003.

#### 4.5. Influência de meios de cultura sobre as características culturais de isolados de *Lasiodiplodia theobromae*

As características culturais dos vinte e cinco isolados de *L. theobromae* estudados variaram em função dos meios utilizados (Tabela 6). As variações observadas em cada substrato foram referentes à coloração da colônia e formação dos picnídios. De um modo geral, as colônias apresentaram crescimento vigoroso, micélio aéreo, coloração branca nos três primeiros dias e posteriormente, tornaram-se escuras cobrindo toda a superfície da placa entre 48 e 72 h, formando picnídios geralmente entre o 7º e 9º dia de incubação.

**TABELA 6** – Características de vinte e cinco isolados de *Lasiodiplodia theobromae* em relação à cor da colônia e formação de picnídios em diferentes meios de cultura.

Isolados	Cor da Colônia*				Formação dos picnídios**			
	Meios de Cultura							
	BDA	FA	AvA	V - 8	BDA	FA	AvA	V - 8
01	Cn	Cn	Ba	Ba	Ds	Ds	Ds	Ds
02	Cn	Ba	Cn	Ba	x	x	x	Dsb
03	Cn	Cn	Cz	Cn	x	x	x	Ds
04	Cn	Cn	Cz	Ba	Ds	Ds	Ds	Ds
05	Cn	Cn	Ba	Ba	x	x	x	Dsb
06	Ba	Ba	Cz	Ba	x	x	x	x
07	Ba	Ba	Cn	Cn	Ds	Ds	Ds	Ds
08	Ne	Cn	Cn	Ba	x	x	x	Ds
09	Ba	Cz	Cz	Ba	Dsb	Dsb	Dsb	Ds
10	Cn	Cn	Ba	Cn	x	x	x	Ds
11	Ne	Cn	Cz	Cn	Dsb	Dsb	Dsb	Ds
12	Cn	Cz	Ba	Ba	x	x	x	Ds
13	Cn	Cn	Ba	Ba	x	x	x	Ds
14	Ne	Ne	Cz	Ba	x	x	x	Ds
15	Ne	Ne	Ba	Ba	x	x	x	Ds
16	Ne	Cn	Ba	Ba	x	x	x	x
17	Cn	Cn	Cn	Cn	x	x	x	Ds
18	Cn	Cn	Cn	Ba	Ds	Ds	Ds	Ds
19	Ba	Cn	Cn	Ba	Ds	Ds	Ds	Ds
20	Ba	Cn	Ba	Ba	Ds	Ds	Ds	Ds
21	Cn	Ba	Cn	Ba	Ds	Ds	Dsb	Ds
22	Ne	Ne	Ba	Ba	Ds	Ds	Ds	Ds
23	Cn	Cn	Cn	Cn	Dsb	Dsb	Dsb	Ds
24	Cn	Cn	Cn	Ba	Ds	Ds	Ds	Ds
25	Cn	Cn	Cn	Ba	Ds	Ds	Is	Ds

\*Ba = branco-acinzentado; Cn = cinza a negro; Cz = cinza; Ne = negro.

\*\*Ds = dispersos no meio e superficial; Dsb = dispersos no meio e submersos; Is = isolados superficiais; x = não ocorreu.

A coloração das colônias variou de branco – acinzentada a negro, passando pelo cinza. Observou-se que a maioria dos isolados formaram colônia de coloração cinza a negro, sendo esta predominante em todos os meios independente dos isolados, seguidas da coloração branca – acinzentada que teve certa predominância no meio V-8.

No que concerne à formação dos picnídios, verificou-se que todos os meios induziram a formação destes, exceto nos isolados 02, 03, 05, 08, 10, 12, 13, 14, 15, 16 e 18. O meio AvA promoveu picnídios isolados e superficiais (Is) nos isolados 24 e 25, picnídios dispersos no meio e submersos (Dsb). O meio V-8 promoveu a formação de picnídios em vinte e três isolados; os isolados 06 e 16 foram os únicos que não apresentaram formação de picnídios nesse meio. Diferentemente dos demais, os isolados 02 e 05 apresentaram picnídios dispersos no meio e submersos. Os meios BDA, FA e AvA comportaram-se de maneira semelhante para os isolados 09, 11 e 23 apresentando picnídios dispersos no meio e submersos (Dsb). Todos os meios também se comportaram de maneira semelhante para os demais isolados apresentando picnídios dispersos no meio e picnídios superficiais (Ds). As variações nas características culturais desse fungo em diferentes substratos indicam que *L. theobromae* como a grande maioria dos fungos, difere em suas características morfológicas, conforme modificações no substrato de desenvolvimento (Pereira et al., 2006).

#### **4.6. Sensibilidade “in vitro” de *Lasiodiplodia theobromae* a diferentes fungicidas**

As concentrações 1 e 10 µg de i.a./mL dos fungicidas utilizados ( cercobim, cuprozeb, derosal e manzate), para avaliar a porcentagem de inibição do crescimento micelial não mostraram eficiência, pois, essas não inibiram o crescimento micelial nos vinte e cinco isolados testados. Observou-se que apenas a concentração de 100 µg do i.a./mL dos fungicidas tiofanato metílico, mancozeb/oxicloreto de cobre e carbendazim inibiram o crescimento micelial de todos os isolados estudados. O fungicida mancozeb não mostrou eficiência em nenhuma das concentrações testadas, apresentando crescimento micelial igual ao da testemunha (9/9 cm) após cinco dias de incubação.

Pode-se verificar o grau de eficiência dos 4 fungicidas testados “in vitro”, no controle de *L. theobromae* como pode ser mostrada na tabela Tabela 7. Constatando-se que o fungicida mancozeb apresentou-se ineficiente no controle de *L. theobromae*, enquanto que os demais fungicidas mostraram-se pouco eficiente no controle do patógeno.

**Tabela 7** - Eficiência “in vitro” de fungicidas para o controle de *Lasiodiplodia theobromae* em condições de laboratório.

Fungicida	Nome Técnico	Concentração do Ingrediente ativo	Modo de Ação	DE50* (mg/L)	Grau de Eficiência
Cercobin	Tiofanato metílico	700g/Kg	Sistêmico	10-50	PE
Cuprozeb	Oxic. de Cobre + Mancozeb	700g/Kg	Protetor	10-50	PE
Derosal	Carbendazin	500g/Kg	Sistêmico	10-50	PE
Manzate	Mancozeb	800g/Kg	Protetor	> 50	I

\*Dose necessária para inibir em 50% o crescimento micelial.

PE – Pouco eficiente e I – Ineficiente.

O fungicida protetor, mancozeb/oxicloreto de cobre e os fungicidas sistêmicos tiofanato metílico e carbendazim, foram considerados fungicidas de pouca eficiência nas condições estudadas, permitindo o crescimento micelial do fungo em dosagens de DE50: 10 – 50 mg/L.

Já o fungicida Protetor manzate foi classificado como ineficiente, não impedindo o crescimento do micélio em dosagens maiores que DE50: > 50 mg/L.

Tavares et al. (1994) testando com fungicidas para o controle de *L. theobromae* “in vitro”, obteve resultados expressivos com os fungicidas Tebuconazole, Cyproconazole, Bitertanol, Trifenil Acetato de Estanho, Metalaxil + Mancozeb, Iprodione, Thiram e Maneb no controle da *L. theobromae*, e nenhum halo de inibição do fungo com os fungicidas Cymoxanil, Fentim Hydroxide, Imibenconazole, Enxofre, Captam, Mancozeb, Chlorothalonil e Fosetil.

Resultados apresentados mostram a eficiência “in vitro” dos fungicidas sistêmicos Tebuconazole e Procimidone e do fungicida protetor Fluazinan. Assim, trabalhos devem ser conduzidos a fim de verificar o comportamento destes fungicidas sistêmicos e protetores em condições de campo, no controle de doenças causadas por *L. theobromae*, pois, os experimentos “in vitro” constituem-se fase preliminar de pesquisa (Torgeson, citado por Rodrigues, 2003).

## **5. CONSIDERAÇÃO FINAL**

As variações nas características culturais desse fungo em diferentes substratos indicam que *L. theobromae* difere em suas características morfológicas, conforme modificações no substrato.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARDOSO, J.E.; FREIRE, F.C.O. Identificação e manejo das principais doenças. In: Melo, Q.M.S. (ed.) Caju Fitossanidade. Brasília. Embrapa Informação Tecnológica. 2002, p.41-51.

CARDOSO, J.E.; VIANA, F.M.P., FREIRE, F.C.O. SANTOS, A.S. Doenças. In: Cardoso, J.E. (ed.) Groviola Fitossanidade. Brasília. Embrapa Informação Tecnológica. 2002, p.9-21.(a)

CARDOSO, J. E.; MAIA, C. B.; PESSOA, M. N. G. Ocorrência de *Pestalotiopsis psidii* e *Lasiodiplodia theobromae* causando podridão no caule da goiabeira no Ceará. **Fitopatologia Brasileira**. v. 27, n. 3, 2002.(b)

EMBRAPA

AGROINDÚSTRIA

TROPICAL

<http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/arquivos/artigo>, acessado em 11/06/2010 as 10:40h

FREIRE, F.C.O.; CARDOSO, J.E. Doenças do coqueiro. In: Freire, F.C.O., Cardoso, J.E., Viana, F.M.P. (ed.) Doenças de fruteiras tropicais de interesse agroindustrial. Brasília. Embrapa Informação Tecnológica. 2003, p.191-226.

JUNQUEIRA, N.T.V.; CUNHA, M.M.; OLIVEIRA, M.A.S., PINTO, A.C.Q. Graviola para exportação: Aspectos fitossanitários. Brasília. EMBRAPA-SPI, 1996, 67p.

MENEZES, M. MUNIZ, M.F.S., QUEIROZ, F.M. Podridão da haste do mamoeiro “sunrise-solo” causada por *Botryodiplodia theobromae* no estado de Alagoas. **Summa Phytopathologica**, v.23, p.44-45, 1997.

MORAES, W.S. CASTRO, H.A. LEITE, E., NOVAES, R.L., CAMPOS, S.S., AMORIM, L. KIMURA, M. Caracterização morfológica e cultural de *Botryodiplodia theobromae* em diferentes meios de cultura. **Fitopatologia Brasileira**. v. 20, p. 366. 1995 (Resumo).

PEREIRA, A.L.; SILVA, G.S.; RIBEIRO, V.Q. Caracterização fisiológica, cultural e patogênica de diferentes isolados de *Lasiodiplodia theobromae*. **Fitopatologia Brasileira**. v. 31. p. 572-578, 2006.

RAM, C. Características culturais, esporulação e violência do “strain” *Botryodiplodia theobromae* agente causal da queima-das-folhas do coqueiro (*Cocos nucifera*). **Fitopatologia Brasileira**, v.18, p.143-146. 1993.

RAM, C. Efeito de fungicidas aplicados em mistura sobre incidência da queima-das-folhas e produção do coqueiro. **Fitopatologia Brasileira**. v. 18, p. 264, 1993. (Resumo).

RODRIGUES, R., PARADELA FILHO, O., RIBEIRO, I.J.A. Caracterização morfológica e patológica de *Lasiodiplodia theobromae*, agente causal da podridão do tronco e raízes de videira. **Summa Phytopathologica**, v. 30, p.43-50, 2004.

RODRIGUES, R., PARADELA FILHO, O., RIBEIRO, I.J.A. Caracterização morfológica e patológica de *Lasiodiplodia theobromae*, agente causal da podridão do tronco e raízes de videira. Dissertação (mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical). Campinas, Instituto Agronômico de Campinas, 2003. 53p.

TAVARES, C. C. H.; AMORIM, L. R.; ASSUNÇÃO, I. P.; PEREZ, J. O. & LIMA, J. A. S. *Botryodiplodia theobromae* (Pat.) em mangueira no Vale São Francisco, IV proteção de pomares. **Fitopatologia Brasileira**, v. 19 (Suplemento), p. 292,1994.

TAVARES, S.C.C.H.; BARRETO, D.S.B.; AMORIM, L.R. Levantamento do comportamento de *Botryodiplodia theobromae* em videira na região Semi-Árida. Anais, XII Congresso Brasileiro de Fruticultura, Salvador, BA, 1994. pp. 933-934.

TAVARES, S.C.C.H. Principais doenças da mangueira e alternativas de controle. Informações técnicas sobre a cultura da manga no Semi-Árido Brasileiro. DF. EMBRAPA-CPATSA. 1995.

TORGESON, D. C. **Fungicides**, v. 1, Academic Press, New York, 1967.

