

## Métodos para preservação de urediniósporos de *Prospodium tecomicola*

Fernando Montezano Fernandes<sup>1</sup>, Felipe André Sganzerla Graichen<sup>2</sup>, Auigner Dias Ruis da Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Rodovia Graziela Maciel Barroso Km 12, CEP 79200 – 000, Aquidauana – MS. <sup>2</sup> Laboratório de Fitossanidade Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Unidade Universitária de Aquidauana, Aquidauana-MS.

Autor para correspondência: Felipe André Sganzerla Graichen (felipeandre@uems.br).

Data de chegada: 26/09/2016. Aceito para publicação em: 12/04/2017.

10.1590/0100-5405/169588

### RESUMO

Fernandes, F.M.; Graichen, F.A.S.; Silva, A.D.R. Métodos para preservação de urediniósporos de *Prospodium tecomicola*. *Summa Phytopathologica*, v.43, n.3, p.236-238, 2017.

O objetivo desse trabalho foi avaliar um método de preservação de esporos, capaz de manter a viabilidade dos urediniósporos de *Prospodium tecomicola* por um longo período de tempo. Os tratamentos para a preservação dos esporos coletados consistiram no armazenamento sob as seguintes condições: i) Herborizados em temperatura ambiente; ii) Geladeira a 4°C; iii) Geladeira em dessecador com solução KOH 8,6 M; iv) Freezer -20°C; v) Desidratação em sílica gel e armazenados a temperatura de -4°C geladeira; vi)

Desidratação em sílica gel e armazenados a temperatura de -20°C freezer. As avaliações da viabilidade foram realizadas antes e após 15, 57, 85, e 127 dias de armazenamento. O tratamento que melhor manteve o potencial germinativo dos esporos, foi a desidratação em sílica gel à temperatura de 4°C, mantendo-se acima de 5% no período de 15 a 85 dias após o armazenamento, e os esporos desidratados em sílica gel e armazenados a temperatura de -20°C obteve até 2,5% de germinação aos 127 dias.

**Palavras-chave:** ferrugem do ipê, germinação de esporos, sílica gel.

### ABSTRACT

Fernandes, F.M.; Graichen, F.A.S.; Silva, A.D.R. Methods for the preservation of *Prospodium tecomicola* urediniospores. *Summa Phytopathologica*, v.43, n.3, p.236-238, 2017.

**Abstract:** The aim of this study was to evaluate a spore preservation method capable of maintaining *Prospodium tecomicola* urediniospore viability for a long time. Treatments for the preservation of collected spores were storage under the following conditions: i) dried leaves at room temperature; ii) refrigerator at 4°C; iii) refrigerator inside a desiccator with 8.6 M KOH solution; iv) freezer at -20°C; v) silica gel dehydration and storage in a refrigerator at -4°C; vi) silica

gel dehydration and storage in a freezer at -20°C. Spore viability assessments were conducted before storage and after 15, 57, 85, and 127 days of storage. The treatment that maintained the best germination potential of spores was silica gel dehydration at 4°C, keeping it above 5% from 15 to 85 days after storage, while silica gel dehydrated spores stored at -20°C obtained up to 2.5% germination at 127 days.

**Keywords:** ipê rust, spore germination, silica gel.

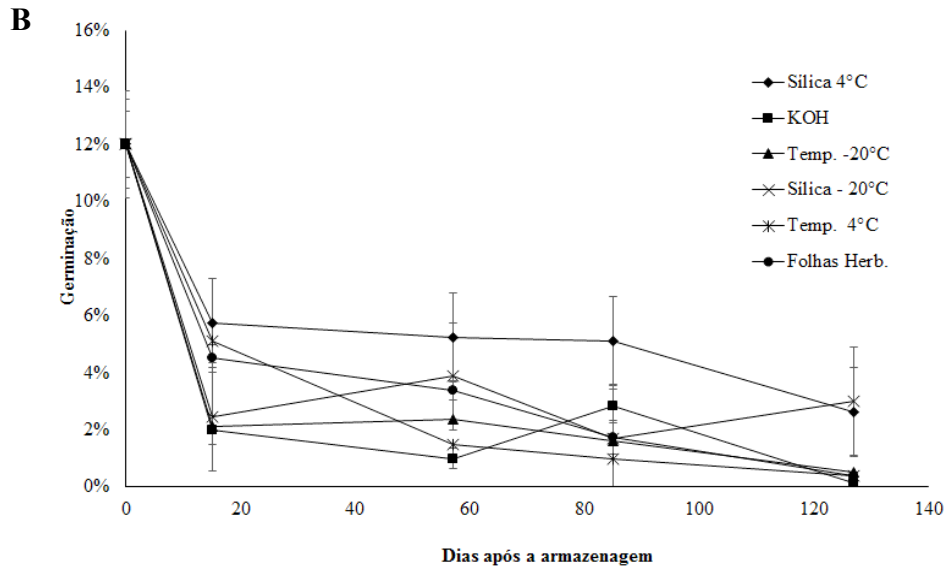
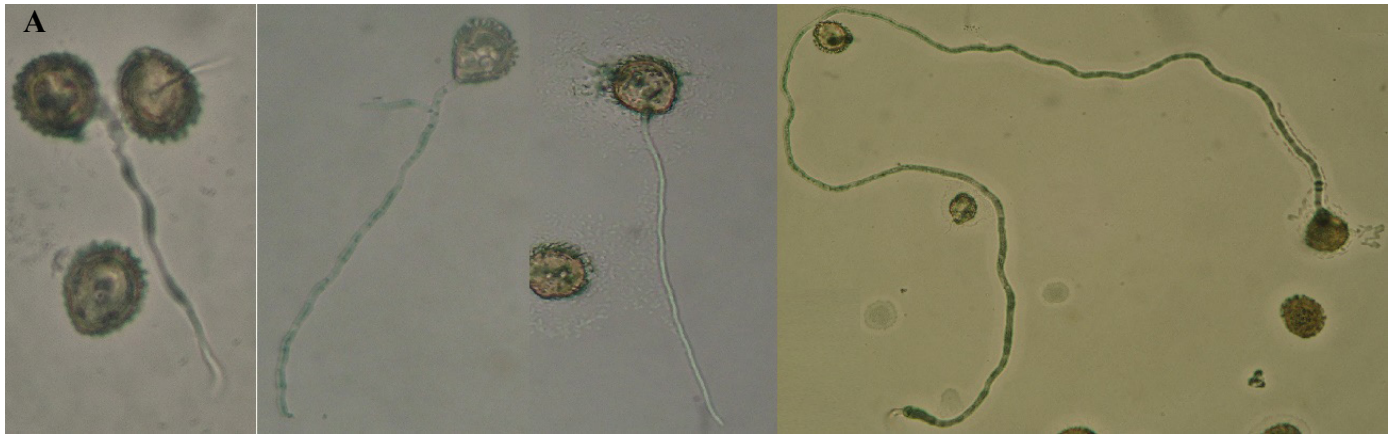
A ferrugem dos ipês é causada por fungos do gênero *Prospodium*, sendo relatada a ocorrência de *P. bicolor* e *P. tecomicola* em ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia*), ocorrendo em árvores adultas, porém a maior preocupação é sua ocorrência em viveiros (2). Como a ferrugem é uma doença que apresenta sazonalidade na manifestação de sintomas, a falta de um método eficiente de preservação do patógeno por um longo período de tempo, restringe as possibilidades de serem realizados um número maior de estudos sobre esta doença (5).

Diante disso, torna-se importante conhecer a viabilidade dos urediniósporos na ausência de plantas hospedeiras, já que não se sabe a respeito do armazenamento dos esporos de *Prospodium* spp. Entre os diversos métodos de preservação de esporos fúngicos descritos, deve-se utilizar aqueles que mantenham inalteradas o maior número possível das características dos microrganismos. Isso é particularmente importante no caso dos patógenos de plantas, para os quais a patogenicidade é uma característica essencial (5). O objetivo desse trabalho foi determinar um método de preservação capaz de manter a viabilidade

dos urediniósporos de *Prospodium tecomicola* por um longo período de tempo.

Os urediniósporos de *Prospodium tecomicola* foram obtidos diretamente de folhas com sintomas de seu hospedeiro *Handroanthus vellosii*. Essas plantas estão localizadas no campus da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Unidade Universitária de Aquidauana (UEMS/UUA), região do ecótono Cerrado-Pantanal, com coordenadas geográficas Latitude 20°27' Sul; Longitude 55°39' Oeste. Após a obtenção dos esporos, foi avaliada a viabilidade inicial dos urediniósporos, e em seguida foram submetidos a diferentes métodos de preservação.

Os esporos foram armazenados em frascos de vidro e submetidos aos tratamentos. i) herborização das folhas com esporos a temperatura ambiente; ii) geladeira a temperatura de 4°C; iii) geladeira em dessecador com solução KOH na concentração de 8,64 M, proporcionando uma umidade relativa de cerca de 15%; iv) freezer a temperatura de -20°C; v) desidratação em sílica gel armazenados a temperatura de 4°C em



**Figura 1.** A) Urediniósporos de *Prospodium tecomicola* apresentando tubo germinativo após incubação. B) Porcentagem de germinação dos urediniósporos de *Prospodium tecomicola* submetidos a diferentes tratamentos para preservação.

geladeira; vi) desidratação em sílica gel armazenados a temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$  no freezer. Para a desidratação dos esporos do tratamento v e vi, estes foram colocados em dessecador contendo sílica gel a temperatura ambiente durante 48 horas, antes de submete-los às respectivas temperaturas (1, 5, 6).

A viabilidade dos urediniósporos coletados e armazenados foi estimada através da sua capacidade de germinação. Para isso foram utilizadas placas de Petri contendo 20 mL de meio ágar-água (2%) em que foi depositada uma suspensão de esporos em uma solução de água destilada: Tween® 20:gelatina (1:0,01%:0,25%). Cada placa de Petri recebeu 0,75 mL de uma suspensão contendo  $10^6$  esporos  $\text{mL}^{-1}$ , posteriormente foram acondicionadas em uma câmara incubadora tipo BOD sendo mantidas a temperatura de  $25^{\circ}\text{C}$ . Após 12, 24 e 48 h, as placas foram avaliadas com o auxílio de um microscópio ótico, considerando germinados aqueles que produziram um tubo germinativo com comprimento maior que o diâmetro do urediniósporo (Figura 1A). Não houve diferença na germinação dos esporos entre o tempo após a incubação, em função disso são apresentados apenas dados de germinação após 12 h de incubação.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) com seis tratamentos e quatro repetições (placas de Petri), sendo que em cada repetição foram contados 200 esporos. As

avaliações da viabilidade dos urediniósporos foram realizadas antes do armazenamento (controle), e após 15, 57, 85, e 127 dias de armazenamento.

A porcentagem de germinação dos urediniósporos realizada após a coleta, antes do armazenamento foi baixa, cerca de 12%. Garcia et al. (5) observaram baixa germinação em *Puccinia melanocephala*, agente causal de ferrugem em cana-de-açúcar, verificando que algumas espécies de fungos que causam ferrugem apresentam baixa taxa de germinação. O tratamento que melhor manteve o potencial germinativo dos urediniósporos foi a desidratação em sílica gel e armazenamento à temperatura de  $4^{\circ}\text{C}$ , mantendo-se acima de 5% no período de 15 a 85 dias após o armazenamento. A desidratação dos esporos também pode contribuir de maneira positiva, Furtado et al. (4) avaliaram o efeito da desidratação dos urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi* e posterior estocagem a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Os autores verificaram uma maior taxa de germinação em comparação com tratamentos em que não foi realizada a desidratação dos esporos. No presente estudo, os esporos desidratados em sílica gel e armazenados à temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$  tiveram 2,5% de germinação aos 127 dias (Figura 1B), uma porcentagem baixa quando comparada com o resultado obtido na temperatura de  $4^{\circ}\text{C}$ .

Os esporos armazenados em folhas herborizadas apresentaram uma taxa de germinação próxima a 4% aos 15 dias e 0,4% aos 127 dias.

Aos 127 dias a germinação em todos os tratamentos foi inferior a 4%.

A baixa germinação dos urediniósporos pode ter sido causada pela presença de teliósporos junto aos urediniósporos, pois as ferrugens de regiões de clima temperado ou tropical possuem as paredes de seus teliósporos extremamente espessas, com elevada concentração de substâncias autoinibidoras da germinação, causando dormência nos esporos durante os períodos desfavoráveis à infecção, essas substâncias podem ter sido responsáveis pela baixa taxa de germinação dos esporos (3). O tratamento prévio de urediniósporos com desidratação em sílica gel e armazenados a 4°C, mantiveram até 85 dias a viabilidade dos urediniósporos superior aos outros tratamentos.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul e ao CNPq pela concessão de uma bolsa de Iniciação Científica ao primeiro autor do trabalho.

#### REFERÊNCIAS

1. Angelotti, F.; Tessmann, D.J.; Scapin, C.R.; Vida, J.B. Efeito da temperatura e da luz na germinação de urediniósporos de *Phakopsora euvitis*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 37, n. 1, p. 59-61, 2011.
2. Ferreira, F.A. **Patologia Florestal: principais doenças florestais no Brasil**. Viçosa: Sociedade de Investigação Florestal, 1989. 570p.
3. Figueiredo, M.B.; Carvalho Jr., A.A. Efeito da lavagem dos soros na germinação dos teliosporos telióides de *Puccinia pampeana*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 20, n. 2, p. 101-104, 1994.
4. Furtado G.Q.; Alves S.A.M.; Czermainski A.B.C.; Massola Jr., N.S. Preservation of *Phakopsora pachyrhizi* uredospores. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 156, n. 1, p. 62-64, 2008.
5. Garcia, E.O.; Casagrande, M.G.; Rago, A.M.; Massola JR, N.S. Preservação de urediniósporos de *Puccinia melanocephala*, agente causal de ferrugem em cana-de-açúcar. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 2, p. 152-156, 2007.
6. Zambenedetti, E.B.; Alves, E.; Pozza, E.A.; Araújo, D.V. Germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi* em diferentes métodos de armazenamento. **Summa Phytopathologica**. Botucatu, v. 33, n. 1, p. 83-85, 2007.