

## Germinação de Conídios de *Sphaerotheca pannosa* Obtidos de Eucalipto

Maria D. D. Silva<sup>1</sup>, Acelino C. Alfenas<sup>2</sup>, Luiz A. Maffia<sup>2</sup> & Edival A. V. Zauza<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Engenharia Florestal, <sup>2</sup>Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, CEP 36571-000, Viçosa, MG, e-mail: aalfenas@ufv.br

(Aceito para publicação em 08/08/2003)

Autor para correspondência: Acelino Couto Alfenas.

SILVA, M.D.D., ALFENAS, A.C., MAFFIA, L.A. & ZAUZA, E.A.V. Germinação de conídios de *Sphaerotheca pannosa* obtidos de eucalipto. Fitopatologia Brasileira 28:674-681. 2003.

### RESUMO

Estudou-se a germinação de conídios de *Sphaerotheca pannosa* em diferentes meios-suporte sob diferentes regimes de umidade relativa, fotoperíodo e temperatura. Às 24 h da incubação, avaliou-se a germinação em ágar-água, lâmina de vidro e folha destacada, sob condições de câmara úmida. Não se constatou germinação de conídios

em lâmina de vidro escavada, ou placas de Petri, na presença de água livre. A germinação do patógeno foi favorecida por umidade relativa próxima a 100%, fotoperíodo de 12 h, com exposição inicial à luz e temperaturas de 20 a 25 °C.

**Palavras-chave adicionais:** *Eucalyptus* sp., oídio, epidemiologia.

### ABSTRACT

#### Conidial germination of *Sphaerotheca pannosa* collected from eucalyptus

The conidial germination of *Sphaerotheca pannosa* was studied in different supporting media, under different levels of relative humidity (RH), photoperiod and temperature. At 24 h of incubation,

conidial germination was assessed on water agar, glass slides and leaves of eucalyptus (*Eucalyptus citriodora*) kept in a moisture chamber. Conidial germination did not occur on slides or Petri dishes in the presence of free water. Optimum conidial germination was found at 20 and 25 °C, 100% RH and with 12 h of initial light exposure.

O oídio do eucalipto (*Eucalyptus citriodora* Hook), causado pelo fungo *Sphaerotheca pannosa* Wallr. Ex. Fries Lév., tem sido freqüentemente encontrado em mudas de eucalipto na fase de viveiro em várias regiões de Minas Gerais e, em outras espécies do mesmo gênero, a doença tem sido comumente observada em casa de vegetação. Incide em folhas e brotos jovens, causando enrugamentos, deformações do limbo e superbrotaamento das plantas (Ferreira, 1997), podendo acarretar a morte de até 50% das mudas (Mucci *et al.*, 1980). No Brasil, apenas a fase anamórfica do agente etiológico tem sido encontrada e identificada como *Oidium eucalypti* Rostrup. (Ferreira, 1989). O patógeno utiliza nutrientes do hospedeiro, reduz sua fotossíntese, aumenta sua respiração e transpiração, resultando na redução do desenvolvimento e produtividade da planta (Agrios, 1997).

A disseminação do patógeno e a severidade da doença são altamente influenciadas pela radiação, temperatura, precipitação, evapotranspiração, condensação de água, umidade relativa e pelo vento (Aust & Hoyningen-Huene, 1986). A germinação de conídios é favorecida por condições atmosféricas relativamente secas, temperaturas moderadas, luz reduzida (Yarwood, 1957) e umidade relativa próxima a 100% (Weinhold, 1961; Jhooty & McKeen, 1965; Mishina & Talieva,

1988). Assim, o conhecimento dos fatores climáticos que afetam o patógeno é imprescindível para embasar medidas de controle da doença.

Neste trabalho, procurou-se avaliar a germinação *in vitro* de conídios de *S. pannosa* em diferentes meios-suporte e sob diferentes regimes de umidade relativa, fotoperíodo e temperatura.

#### Germinação de conídios de *Sphaerotheca pannosa* sob diferentes meios-suporte

Avaliou-se a germinação de conídios do patógeno sobre folhas destacadas de eucalipto, lâminas de vidro secas, meio de ágar-água e em água em lâminas escavadas. Após deposição de esporos sobre cada meio-suporte testado, efetuou-se a incubação sob condições de câmara úmida convencional, a 20 °C ( $\pm 1$  °C), fotoperíodo de 12 h (luz branca) com exposição inicial à luz, durante 24 h. A germinação foi interrompida pela adição de azul de Amann (lactofenol/azul de algodão) e, a seguir, cobriu-se a amostra com uma lamínula para facilitar a avaliação dos resultados. Determinou-se a germinação de 100 conídios por repetição, visualizados aleatoriamente, no campo microscópico (400 X). Considerou-se germinados os conídios com tubo germinativo maior, ou igual, a sua menor dimensão.

Para cada tratamento, empregaram-se quatro repetições, perfazendo um total de 400 esporos amostrados.

Para o teste de germinação em folhas destacadas de eucalipto, folhas de *Eucalyptus pellita* F. Muell foram coletadas e, em seguida, desinfestadas em solução aquosa de hipoclorito de sódio a 100 ppm de cloro ativo durante 1 min; depois, foram lavadas em água destilada esterilizada e, a seguir, secas em papel toalha. Para inoculação, tocou-se levemente a folha destacada sadia em outra folha infetada de *E. pellita* contendo esporulação do fungo. Para facilitar a avaliação dos resultados, os conídios foram transferidos para lâminas de vidro para microscopia, passando uma das superfícies da lâmina sobre a área foliar inoculada.

Em relação ao teste de germinação em lâmina de vidro, utilizaram-se quatro lâminas, devidamente limpas, esterilizadas e secas. Para a deposição de inóculo, uma das superfícies de cada lâmina foi passada levemente sobre as folhas de eucalipto contendo esporulação do patógeno.

Quanto à germinação em ágar-água e em água deionizada procedeu-se da seguinte forma: em quatro placas de Petri, depositaram-se 15 ml de ágar-água fundente a 1% e, em quatro lâminas escavadas, 200 µl de água deionizada esterilizada. Mediante o uso de um pincel de cerdas macias, transferiram-se conídios de folhas infetadas para as placas e para as lâminas escavadas.

### Germinação de conídios sob diferentes níveis de umidade relativa, fotoperíodo e temperatura

**Umidade relativa.** Folhas de *E. pellita* com infecção natural de *S. pannosa*, em casa de vegetação, foram lavadas com um leve jato de água, corrente, destilada, a fim de remover os esporos. Após quatro a cinco dias de incubação em câmara de crescimento a 20 °C ( $\pm 1$  °C), 80% de umidade relativa e fotoperíodo de 12 h, os conídios produzidos foram removidos e depositados em lâminas de vidro secas, por meio de contato com folhas infetadas. Utilizando a metodologia citada por Dhingra & Sinclair (1985), testou-se o efeito da umidade relativa sobre a germinação de conídios. Para isto, empregaram-se oito dessecadores, contendo 200 ml de solução aquosa saturada de  $K_2CO_3$ ,  $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ ,  $COCl_2 \cdot 6H_2O$ ,  $NH_4Cl$ ,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ,  $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ ,  $CaSO_4$  e água destilada, de modo a se obter, respectivamente, 44, 55, 67, 80, 90, 95, 98 e 100% de UR. Antes de transferir as lâminas com os conídios do fungo para os dessecadores, aguardou-se 24 h para que a umidade no interior dos dessecadores estabilizasse. Obtido o equilíbrio dos níveis de umidade relativa, as lâminas contendo conídios do fungo foram colocadas nos dessecadores, e estes mantidos em câmara de crescimento a 20 °C ( $\pm 10$  °C) e fotoperíodo de 12 h (3.000 lux, lâmpadas fluorescentes luz do dia), com exposição inicial à luz. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições por tratamento, onde cada lâmina constituiu uma repetição. Avaliou-se a germinação 24 h após a incubação. Este ensaio foi repetido por mais duas vezes, para confirmação dos resultados.

**Fotoperíodo.** Avaliou-se a germinação de conídios de

*S. pannosa*, obtidos de colônias esporulantes com cinco dias de idade, sobre lâminas de vidro, mantidas em condições de câmara úmida (100% UR), temperatura de 20 °C ( $\pm 1$  °C) e luminosidade de, aproximadamente, 3.000 lux (lâmpadas fluorescentes luz do dia). Testaram-se oito regimes de fotoperíodo: 24 h de luz, 18 h de luz + 6 h de escuro, 12 h de luz + 12 h de escuro, 6 h de luz + 18 h de escuro, 24 h de escuro, 18 h de escuro + 6 h de luz, 12 h de escuro + 12 h de luz, 6 h de escuro + 18 h de luz. Obteve-se a condição de escuro contínuo, cobrindo-se a câmara úmida com plástico preto. Após 24 h de incubação, interrompeu-se a germinação e contou-se o número de conídios germinados, conforme previamente descrito. O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, constituídas pelas lâminas. O ensaio foi repetido por mais duas vezes.

**Temperatura.** Estudou-se a germinação de conídios de *S. pannosa* provenientes de colônias esporulantes com cinco dias de idade, a 10, 15, 20, 25, e 30 °C. Os conídios do patógeno foram depositados sobre lâminas de vidro esterilizadas e secas, mantidas em condição de câmara úmida (100% UR), luminosidade de, aproximadamente, 3.000 lux (lâmpadas fluorescentes luz do dia) e fotoperíodo de 12 h, com exposição inicial à luz, durante 24 h. A germinação foi interrompida conforme previamente descrito, e avaliada em 100 conídios por lâmina. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, constituídas pelas lâminas. Para confirmação dos resultados, este ensaio foi repetido por mais duas vezes.

A germinação de conídios de *S. pannosa*, obtidos de eucalipto, não diferiu, significativamente, quando mantidos sobre folhas de eucalipto destacadas, lâminas de vidro ou ágar-água. Os conídios não germinaram em água deionizada (Tabela 1). Ainda que relativamente baixa, a germinação de conídios encontrada neste trabalho foi superior a obtida por Mucii *et al.* (1980) para o mesmo patógeno. Esses autores obtiveram apenas 15,08% de germinação em água livre e 2,48% em BDA. A germinação de conídios de *S. pannosa* obtida por Weinhold (1961) foi de 16,7 sobre folhas de pessegueiro [*Prunus persicae* (L.) Batsch] e 2,6%, em lâminas de vidro.

Maior percentual de germinação foi obtido a 98% de umidade relativa e, entre 80 e 90%, a germinação foi muito baixa, provavelmente devido à desidratação dos conídios. Em níveis de umidade relativa abaixo de 80% a germinação foi praticamente nula (Figura 1). Estes resultados confirmam, em parte, aqueles obtidos por Mucci *et al.* (1980) em que a germinação de conídios de *Oidium eucalypti* Rostrup foi máxima a 100% de umidade relativa. Resultados similares foram encontrados por Weinhold (1961), para conídios de *S. pannosa*, obtidos de pessegueiro. Maior índice de germinação de conídios e infecção máxima de *Sphaerotheca macularis* (Wallr.) Fr. foram conseguidos por Jhooty & McKeen (1965), quando submeteram o patógeno e seu hospedeiro a 100% de umidade relativa.

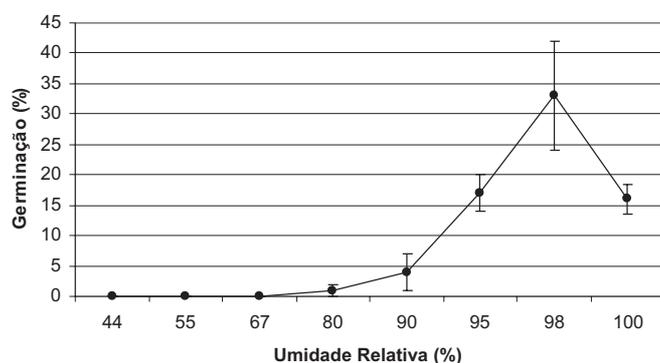
Na presença de água livre, observaram-se conídios de *S. pannosa* com a membrana citoplasmática rompida, prova-

**TABELA 1** - Germinação de conídios de *Sphaerotheca pannosa*, obtidos do eucalipto (*Eucalyptus* spp.), em diferentes meios-suporte, a 20 °C, 100% de umidade relativa e fotoperíodo de 12 h, durante 24 h

Meio-suporte	Germinação (%) <sup>1</sup>
Lâmina de vidro	42,6 A <sup>2</sup>
Folha de eucalipto destacada	35,7 A
Ágar-Água	33,2 A
Água deionizada	0,0 B

1 - Média de 400 esporos

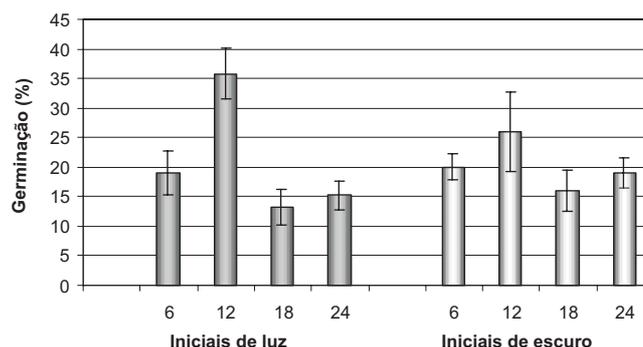
2 - Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey (P = 0,01).



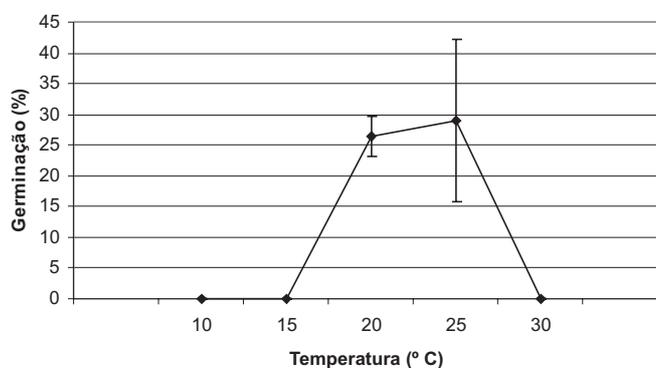
**FIG. 1** - Germinação de conídios de *Sphaerotheca pannosa*, obtidas do eucalipto (*Eucalyptus* spp.), em lâminas de vidro, a 20 °C e fotoperíodo de 12 h, durante 24 h, sob diferentes níveis de umidade relativa. As barras indicam o desvio-padrão em relação às médias.

velmente em consequência da pressão de turgescência, fato que explica a inibição de sua germinação. Ademais, conídios de *Oidium* spp. germinam, satisfatoriamente, em ambiente com elevada umidade relativa, mas são inibidos por água livre na superfície do hospedeiro (Yarwood, 1957; Aust & Hoyningen-Huene, 1986). Assim, a chuva é o fator climático que mais influencia negativamente as epidemias de oídios (Aust & Hoyningen-Huene, 1986). Na prática, isto indica que o controle da doença pode ser favorecido, mediante irrigação por aspersão nos viveiros, de modo a manter um filme de água na superfície do hospedeiro.

A luz influenciou a germinação de conídios (Figura 2), mas seus efeitos não foram tão drásticos quanto os da temperatura (Figura 3) e da umidade relativa (Figura 1). O fotoperíodo de 12 h favoreceu a germinação de conídios de *S. pannosa*. Yarwood (1936) verificou que a severidade de oídio aumenta, dentro de certos limites, com o incremento do período de exposição à luz e que o comprimento médio das células das hifas de *Erysiphe polygoni* DC. foi crescente, quando plantas inoculadas foram submetidas aos períodos de luminosidade de 0, 4, 8 até 12 h e decrescente, de 12 a 24 h. Os tubos germinativos e os conidióforos da maioria dos *Oidium* spp. têm fototropismo positivo (Yarwood 1936; Schinathost 1965). Ademais, seu desenvolvimento é também favorecido por altos



**FIG. 2** - Germinação de conídios de *Sphaerotheca pannosa* obtidos do eucalipto (*Eucalyptus* spp.), em lâminas de vidro, a 20 °C e 100% de umidade relativa, durante 24 h, em diferentes regimes de fotoperíodos. As barras menores indicam o desvio-padrão em relação às médias.



**FIG. 3** - Germinação de conídios de *Sphaerotheca pannosa* obtidos do eucalipto (*Eucalyptus* spp.), em lâminas de vidro, a 100% de umidade relativa e fotoperíodo de 12 h, durante 24 h, em diferentes níveis de temperatura. As barras indicam o desvio-padrão em relação às médias.

índices de carboidrato do hospedeiro. Deste modo, o efeito da luz sobre o hospedeiro pode afetar o patógeno, pois sob luz reduzida, a fotossíntese é também diminuída. Neste caso, o fotoperíodo de 12 h, ideal para o crescimento do eucalipto pode favorecer o patógeno.

A temperatura exerceu influência marcante sobre a germinação de *S. pannosa* no eucalipto (Figura 3). Maiores percentuais de germinação foram obtidos na faixa de 20 a 25 °C, chegando a 0%, em 15 °C e 30 °C. Estes resultados são semelhantes aos obtidos por Weinhold (1961) para conídios de *S. pannosa*, em que a temperatura ótima oscilou entre 21 e 27 °C. Análogamente, a germinação máxima de conídios de *O. eucalypti* foi a 25 °C (Mucci *et al.*, 1980). Para *S. macularis* e *Oidium begoniae* Puttemans a temperatura ótima de germinação foi de 20 °C e 25 °C, respectivamente (Jhooty & McKeen, 1965; Quinn & Powel, 1982).

Para *S. pannosa*, como para a maioria das espécies de *Oidium*, temperaturas entre 20 e 25 °C, umidade relativa próxima a 100% e fotoperíodo de 12 h, com exposição inicial à luz, favorecem a germinação de conídios.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- AGRIOS, G.N. Plant pathology gy. 4. ed. New York, Academic Press, 1997.
- AUST, H.J. & HOYNINGEN-HUENE, J.V. Microclimate in relation to epidemics of powdery mildew. Annual Review of Phytopathology 24:491-510. 1986.
- DHINGRA, O.D. & SINCLAIR, J.B. Basic plant pathology methods. Boca Raton, CRC Press, 1985.
- FERREIRA, F.A. Patologia florestal: principais doenças florestais no Brasil. Viçosa, MG, SIF, 1989.
- FERREIRA, F.A. A cultura do eucalipto II. Enfermidades do eucalipto no Brasil. Doenças em viveiros de eucalipto. Informe Agropecuário 18:5-19. 1997.
- JHOOTY, J.S. & McKEEN, W.E. Studies on powdery mildew of strawberry caused by *Sphaerotheca macularis*. Phytopathology 55:281-285. 1965.
- MISHINA, G. N. & TALIEVA, M.N. Importance of air humidity in the process of conidial germination of powdery mildew of Phlox. Review of Plant Pathology 67:258. 1988.
- MUCCI, E.S.F., PITTA, G.P.S. & YOKOMIZO, N.K.S. O oídio em mudas de eucalipto. São Paulo, Instituto Florestal, Instituto Biológico, 1980. (mimeografado).
- QUINN, J.A. & POWEL, JR. C.C. Effects of temperature, light and relative humidity on powdery mildew of begonia. Phytopathology 5:480-484. 1982.
- SCHINATHORST, W.C. Environmental relationships in the powdery mildews. Annual Review of Phytopathology 3:343-346. 1965.
- YARWOOD, C.E. The tolerance of *Erysiphe polygoni* and certain other powdery mildews to low humidity. Phytopathology 26:845-859. 1936.
- YARWOOD, C.E. Powdery mildews. The Botanical Review 23:235-301. 1957.
- WEINHOLD, A.R. Temperature and moisture requirements for germination of conidia of *Sphaerotheca pannosa* from peach. Phytopathology 51:699-703. 1961.