

# Influência da temperatura e do fotoperíodo na germinação de escleródios de *Botrytis squamosa*, agente etiológico da queima das pontas da cebola, e reflexo disto na produção de conídios

Leandro Luiz Marcuzzo<sup>1</sup>, Antônio João Rosa Neto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal Catarinense – IFC/Campus Rio do Sul, CP 441, 89.163-356, Rio do Sul-SC, Brasil.

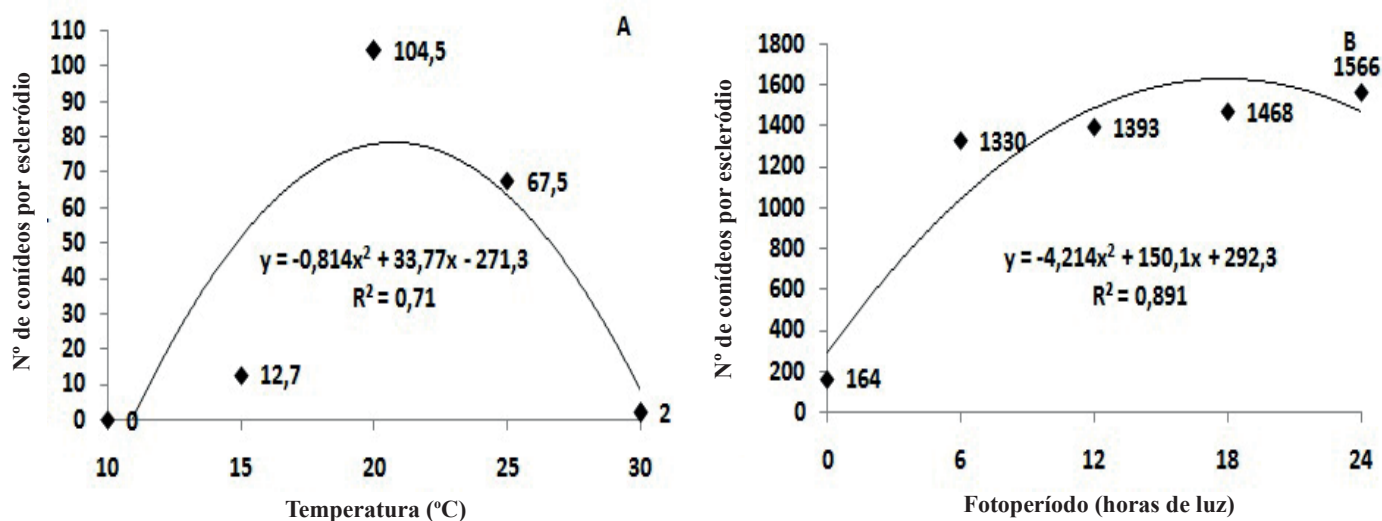
Autor para correspondência: Leandro Luiz Marcuzzo (leandro.marcuzzo@ifc.edu.br)

Data de chegada: 13/08/2018. Aceito para publicação em: 03/10/2019.

10.1590/0100-5405/211530

*Botrytis squamosa* (Walker) é o agente etiológico da queima das pontas da cebola, caracterizada como a doença foliar mais destrutiva na fase de muda da cultura. A doença ocorre em condições de períodos de baixa luminosidade, temperaturas amenas ( $\leq 22^{\circ}\text{C}$ ) e alta umidade do ar ( $\geq 90\%$ ) que acontece na época de plantio no sul do Brasil (5). A doença ocorre nas folhas por meio de manchas esbranquiçadas de forma isolada e não esporulante. No entanto, o sintoma característico e de maior dano na planta é a queima da folha, ocorrendo no ápice e seguindo para a base da folha, onde se observa intensa esporulação sobre o tecido necrosado da folha (4). A principal fonte primária de inóculo do patógeno é os escleródios, dos quais germinam e produzem conídios. Trabalhos ligados a epidemiologia do inóculo primário da doença exigem o conhecimento prévio das condições ambientais necessárias para o início da epidemia, já que pesquisas relacionadas à queima das pontas ainda são escassas. Para tanto, o conhecimento da biologia do patógeno é de grande importância para compreender o desenvolvimento da doença no campo e o seu manejo. Diante disso, este trabalho teve como objetivo avaliar em condições *in vitro* a influência da temperatura e do fotoperíodo na esporulação de conídios nos escleródios de *B. squamosa*. O trabalho foi realizado no Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia do Instituto Federal Catarinense - IFC/ Campus Rio do Sul em experimento com delineamento inteiramente

casualizado com quatro repetições (placas). Os escleródios foram obtidos através da técnica de raspagem em meio de cultura BDA conforme descrito por Nascimento & Marcuzzo (2). Os escleródios passaram por assepsia em álcool 70% e hipoclorito de sódio 1% por 1 e 3 minutos respectivamente em cada agente de assepsia e posteriormente em duas lavagem em água estéril para retirada dos contaminantes. Dez escleródios foram distribuídos equidistantes em cada placa de Petri contendo agar-água 1% com composto de suco de escama de cebola a 10% para induzir a esporulação dos escleródios e em seguida incubados em câmara de germinação do tipo B.O.D. (Demanda Biológica de Oxigênio) nas temperaturas de 5, 10, 15, 20, 25, e  $30^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) no escuro por 7 dias após o plaqueamento dos escleródios. A partir da obtenção da temperatura ótima, repetiu-se o ensaio seguindo a mesma metodologia acima, incubando-se a  $21^{\circ}\text{C}$  com fotoperíodos de 0, 6, 12, 18 e 24 horas, a fim de avaliar o fotoperíodo favorável a esporulação dos conídios nos escleródios. A contagem dos conídios foi feita através da retirada dos dez escleródios de cada placa de Petri com auxílio de uma pinça e da lavagem do crescimento micelial ao redor do escleródio com 20 mL de água de torneira e colocados em recipiente de vidro de 300 mL com tampa rosqueável. Após sucessivas agitações manuais, a fim de desprender os conídios presentes junto aos conidióforos presentes nos escleródios, estes foram coados em peneira



**Figura 1.** Curva do número de conídios nos escleródios de *Botrytis squamosa* produzidos *in vitro* em diferentes temperaturas (A) e fotoperíodos (B). IFC/Campus Rio do Sul, 2018.

plástica e o decoto contendo os conídios foram depositados em um Becker de 150 mL. Uma alíquota de 0,1 mL da suspensão de conídios foi coletada com uma pipeta de Pasteur e depositada em câmara de Neubauer para quantificação do número de conídios produzidos por escleródio em cada temperatura e fotoperíodo através da visualização de microscópio óptico com a objetiva de 10 vezes. Considerou-se a média dos conídios encontrados nos dois campos visuais da câmara de Neubauer. Verificou-se que a temperatura influenciou na esporulação de conídios nos escleródios, tendo apresentado melhor desenvolvimento entre as temperaturas de 20 e 25°C (Figura 1A), onde foram formados em média 104,5 e 67,5 conídios por escleródio respectivamente. Utilizando a equação gerada pela curva ( $y = -0,814x^2 + 33,77x - 271,3$ ;  $R^2 = 0,710$ ) (Figura 1A) obtém-se a temperatura ideal de 21°C para a germinação de escleródios de *B. squamosa*. A temperatura da germinação de escleródios no presente trabalho esta acima dos 16-18°C utilizada no trabalho de Ellerbrock & Lorbeer (1) para a germinação de escleródios de *B. squamosa* provenientes do solo. Em relação a formação de escleródios em diferentes fotoperíodos, observou-se a formação de uma linha polinomial (Figura 1B), que através da equação  $y = -4,214x^2 - 150,1x + 292,3$  ( $R^2 = 0,891$ ), verificou-se que o maior incremento (710%) de esporulação dos escleródios aconteceu em 6 horas de luz em proporção ao escuro, enquanto que fotoperíodos maiores a 6 horas de luz o incremento é de apenas 14,5%. O resultado da esporulação no escuro foi semelhante ao encontrado quando avaliou o efeito da temperatura (Figura 1A). Mediante a isso é possível que *B. squamosa* tem sua germinação favorecida por menores períodos de luz, como em dias nublados, situação típica essa durante o outono e inverno

na região do Alto Vale do Itajaí. Neste período ainda, ou seja, outono e inverno ocorre o ciclo da cebola, onde os escleródios presentes no solo (3) germinam e esporulam, favorecendo a ocorrência da doença. As informações obtidas em relação à temperatura e o fotoperíodo na germinação de escleródios de *B. squamosa* permitem um maior conhecimento da biologia do agente causal da queima das pontas da cebola, auxiliando no entendimento da epidemiologia e suporte para o manejo da doença no campo. Além disto, os resultados obtidos servirão de suporte na elaboração de um sistema de previsão da doença.

## REFERÊNCIAS

1. Ellerbrock, L.A.; Lorbeer, J.W. Survival sclerotia and conidia of *Botrytis squamosa*. **Phytopathology**, St. Paul, v.67, n.2, p.219-225, 1977.
2. Nascimento, A.; Marcuzzo, L.L. Evaluation of techniques to produce sclerotia of *Botrytis squamosa* in the middle of culture. In: Congresso brasileiro de microbiologia, 29., 2017, Foz do Iguaçu. **Anais**. São Paulo: Sociedade brasileira de microbiologia, 2017. Disponível em: <<http://www.sbmicrobiologia.org.br/29cbm-anais/listaresumoscongresso.htm>>. Acesso em: 26 abr. 2018.
3. Sutton, J.C.; James, T.D.W.; Rowel, P.M. Relation of weather and host factors to an epidemic of botrytis leaf blight in onion. **Canadian journal plant pathology**, Ottawa, v.5, p.256-265, 1983.
4. Tófoli, J.G.; Ferrari, J.T.; Domingues, R.J.; Nogueira, E.M.C. *Botrytis* sp. em espécies hortícolas: hospedeiros, sintomas e manejo. **Biológico**, São Paulo, v.73, n.1, p.11-20, 2011.
5. Wordell Filho, J. A.; Boff, P. Queima acizentada – *Botrytis squamosa* Walker. In: Wordell Filho, J.A.; Rowe, E.; Gonçalves, P.A.S.; Debarba, J.F.; Boff, P.; Thomazelli, L.F. **Manejo Fitossanitário na cultura da cebola**. Florianópolis: EPAGRI, p.19-30, 2006.