



Procedimento de visualização e avaliação do fungo *Darluca filum* em folhas de ameixeira, utilizando microscopia eletrônica

Luis Antônio Suita de Castro¹
Nara Eliane Moreira Roxa²
Valter Lopes Abrantes²

Várias enfermidades causam prejuízos à produção de frutas no Brasil. Entre estas, encontram-se as causadas por fungos, cujos efeitos refletem-se diretamente sobre a produtividade. A ferrugem da ameixeira, causada pelo fungo *Tranzchelia discolor* (Funckel) Tranz & Livt, provoca o desfolhamento precoce das mudas e plantas adultas, debilitando-as e tornando-as mais suscetíveis a outras doenças. As lesões nas folhas são de coloração amarelo-ferrugíneo, podem ser abundantes e facilmente visíveis. O controle fitossanitário está baseado na utilização de produtos químicos (Martins et al., 1997); entretanto, medidas de controle alternativo devem ser estudadas.

O fungo denominado *Darluca filum* (Biv. Bem. Ex Fr.) Berk. tem sido encontrado em pústulas de ferrugem e, segundo Germn et al. (1986), pode ser um agente de controle biológico. Ocorre como estruturas escuras localizadas no centro das pústulas de ferrugem, na face inferior das folhas da ameixeira (Figura 01) e outras espécies.

Com o objetivo de avaliar procedimentos metodológicos que permitissem caracterizar a ultraestrutura de *Darluca filum*, foram realizadas

atividades de microscopia eletrônica, possibilitando trabalhos futuros envolvendo atividades relacionados ao controle biológico da doença conhecida como "ferrugem da folha" que infecta a ameixeira.

Folhas de ameixeira cv. Santa Rosa, com sintomas de infecção de *Tranzchelia discolor* foram usadas para avaliação da presença de *Darluca filum*. As folhas foram coletadas em plantas em um pomar localizado na Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

Como procedimento geral de preparação das amostras, foram adaptadas metodologias descritas por Hayat (1978), Robinson et al (1987) e Silveira (1989). Como metodologia básica para análise em microscopia eletrônica, fragmentos de folhas foram fixadas por imersão durante uma hora a +4°C em solução tampão fosfato, contendo 2% paraformaldeído e 2,5% glutaraldeído, com pós-fixação em teróxido de ósmio (OsO₄).

Para microscopia eletrônica de transmissão, as amostras foram desidratadas, embebidas e inclusas em resina Epon 812. Os cortes ultrafinos foram contrastados com acetato de uranila e citrato de

¹ Eng. Agrôn., M.Sc. Embrapa Clima Temperado, BR 392 Km 78, Cx. Postal 403, 96001-970, Pelotas - RS, Brasil.

² Eng. Agrôn., B.Sc. Embrapa Clima Temperado, BR 392 Km 78, Cx. Postal 403, 96001-970, Pelotas - RS, Brasil.

chumbo. Posteriormente, foram examinados, utilizando um microscópio eletrônico Zeiss EM 900.

Para observação em microscopia eletrônica de varredura, após o processo inicial, as amostras foram desidratadas em aparelho de ponto crítico e metalizadas com ouro para melhorar a condutividade elétrica. A observação foi realizada utilizando um microscópio eletrônico Zeiss DSM 940A.

A microscopia eletrônica possibilitou visualizar as estruturas que caracterizam esse fungo, representadas principalmente por picnídeos globulares e conídeos, os quais se mostram bicelulares e elípticos (Figura 2). Estudos poderão ser realizados, tendo por objetivo obter maiores informações sobre o inter-relacionamento existente entre os fungos *Darluca filum* e *Tranzchelia discolor*, principalmente relacionados ao controle biológico da ferrugem da ameixeira.

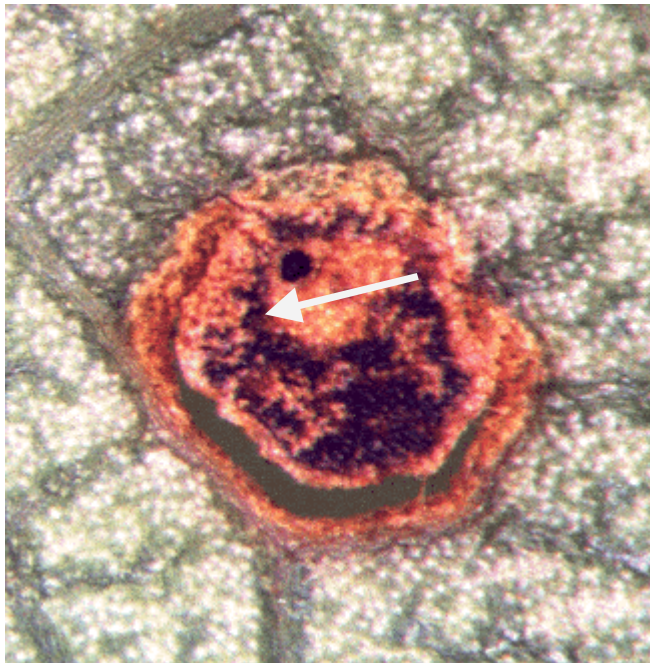


Figura 01 - Lesões de ferrugem (*Tranzchelia discolor*) em folhas de ameixeira cultivar Santa Rosa, mostrando a presença de *D. filum* (seta).

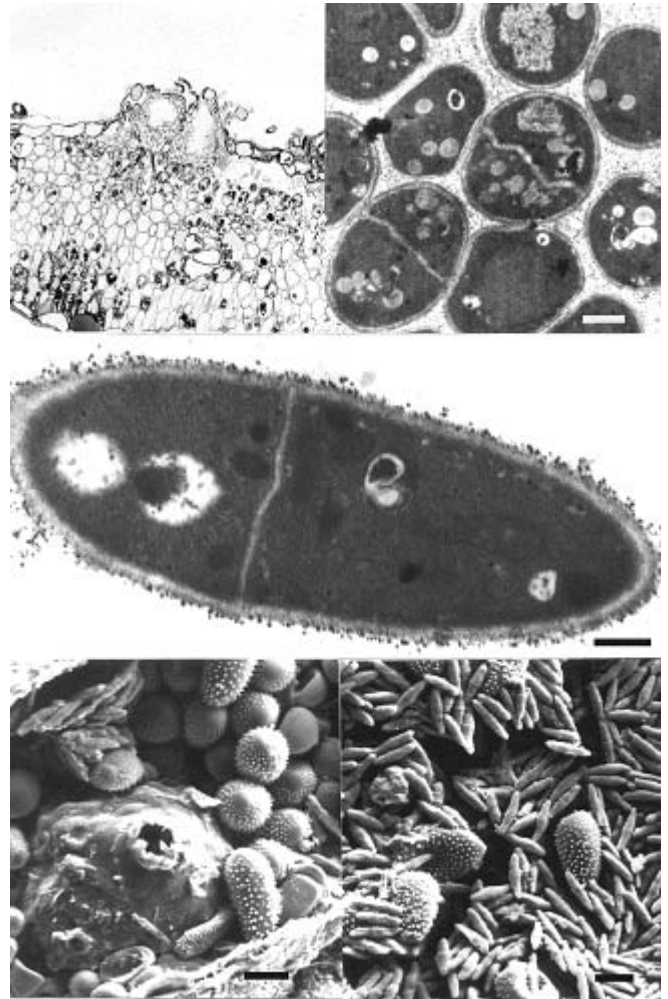


Figura 2 - (A) Micrografia óptica de picnídeos de *D. filum* em folhas de ameixeira. Ampliação: 200X. (B) Micrografia eletrônica de transmissão de conídeos em desenvolvimento no interior de um picnídeo. Barra = 1.1 μm . (C) Micrografia eletrônica de transmissão de um conídeo. Barra = 0.6 μm . (D) Micrografia eletrônica de varredura de um conídeo em folha de ameixeira. Barra = 10 μm . (E) Micrografia eletrônica de varredura de picnídeos de *D. filum* entre uredosporos de *Tranzchelia discolor*. Barra = 10 μm .

Referências Bibliográficas

MARTINS, M.C.; AMORIM, L.; KIMATH, H.

Protective, curative, and eradivative effects of the insecticide cartap in controlling peach tree sust in a controlled environment. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 22, p. 403-406, 1997.

GERMAN, S.; ABADIE, T.; PEREA, C. Epifitia de roya de la hoja sobre el cultivar de trigo La Paz INTA. *Investigaciones Agronomicas*, Montevideo, v. 7, n. 1, p. 75-77, 1986.

HAYAT, M.A. Introduction to biological scanning electron microscopy. Baltimore: University Park Press, 1978. 323 p.

ROBINSON, D.G.; EHLERS, U.; HERKEN, R.; HERRMANN, B.; MAYER, F.; SCCHÜRMANN, F.W. *Methods of preparation for electron microscopy*. New York: Springer-Verlag, 1987. 190 p.

SILVEIRA, M. Preparação de amostras biológicas para microscopia eletrônica de varredura. In: Souza, W. de. *Manual sobre técnicas básicas em microscopia eletrônica*. São Paulo: USP, 1989. v. 1, p. 71-79.

Comunicado Técnico, 109



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

Embrapa Clima Temperado

Endereço: Caixa Postal 403

Fone/fax: (53) 275 8199

E-mail: sac@cpact.embrapa.br

1ª edição

1ª impressão 2004: 50 exemplares

Comitê de publicações

Presidente: Walkyria Bueno Scivittaro

Secretário-Executivo: Joseane M. Lopes Garcia

Membros: Cláudio Alberto Souza da Silva, Lígia Margareth Cantarelli Pegoraro, Isabel Helena Vernetti Azambuja, Cláudio José da Silva Freire, Luís Antônio Suita de Castro. **Suplentes:** Daniela Lopes Leite e Luís Eduardo Corrêa Antunes

Revisão de texto: Sadi Sapper / Ana Luiza Barragana Viegas

Expediente

Normalização bibliográfica: Regina das Graças Vasconcelos dos Santos

Editoração eletrônica: Oscar Castro