



## CONSTRUÇÃO DA PRIMEIRA MICOTECA DE *Mycosphaerella musicola* Leach DO ESTADO DA BAHIA.

Yslai Silva Peixouto<sup>1</sup>, Wilma Brandão de Andrade<sup>2</sup>, Rafaella de Lima Roque<sup>2</sup>, Cláudia Fortes Ferreira<sup>3</sup>, Fernando Haddad<sup>3</sup>, Edson Perito Amorim<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Bióloga, estudante de pós-graduação, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, [yslaipeixouto@hotmail.com](mailto:yslaipeixouto@hotmail.com), [rafaella\\_roque@hotmail.com](mailto:rafaella_roque@hotmail.com)

<sup>2</sup> Graduanda em Biologia, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, [wilma\\_bio@hotmail.com](mailto:wilma_bio@hotmail.com)

<sup>3</sup> Eng. Agr., pesquisador Embrapa Mandioca e Fruticultura, [claudiaf@cnpmf.embrapa.br](mailto:claudiaf@cnpmf.embrapa.br), [fernando@cnpmf.embrapa.br](mailto:fernando@cnpmf.embrapa.br), [edson@cnpmf.embrapa.br](mailto:edson@cnpmf.embrapa.br).

**Resumo:** O fungo *Mycosphaerella musicola* Leach é o agente causal da Sigatoka-amarela em bananeira. Essa doença é reduz da área foliar verde da planta, refletindo em menor produtividade. O objetivo do trabalho foi iniciar uma coleção de isolados de *M. musicola* coletados no Estado da Bahia. As amostras foram coletadas nas principais microrregiões produtoras de banana, a saber: Bom Jesus da Lapa ( Bom Jesus da Lapa), Ilhéus-Itabuna ( Presidente Tancredo Neves, Wenceslau Guimarães, Barro Preto, Gandu e Teolândia), Valença ( Morro de São Paulo) e Vitória da Conquista (Morro de São Paulo). A partir de 141 amostras coletadas consegui-se isolar e preservar 56 isolados (39,72%) em duplicata nos métodos de Castellani, BDA, BDA+Glicerol, Tiras de papel e Esferas de vidro. A primeira micoteca de *Mycosphaerella musicola* Leach do Estado da Bahia está sendo construída.

**Palavras-chave:** *Mycosphaerella musicola* Leach, micoteca, Sigatoka-amarela

### Introdução

O fungo ascomyceto, *Mycosphaerella musicola* Leach (anamorfa: *Peudocercospora musae* Zimm.), agente causal da Sigatoka-amarela em bananeira; também conhecida como Cercosporiose da bananeira, foi inicialmente detectada na ilha de Java (Indonésia) por volta de 1902. Esta doença ganhou maior importância após enormes prejuízos causados no distrito de Sigatoka, nas Ilhas Fiji em 1913. No Brasil, a Sigatoka-amarela foi constatada, pela primeira vez, no Estado do Amazonas, em 1944, estendendo-se posteriormente por todos os estados brasileiros. O fungo *M. musicola* encontra-se disseminado em todas as regiões produtoras de banana do Brasil e do mundo, provocando consideráveis prejuízos na produção dos frutos (FOURÈ, 1994). Entretanto, a doença apresenta maior relevância nas regiões ou microrregiões de clima úmido, com alta pluviosidade e temperaturas em torno de 25 °C. O principal sintoma dessa doença redução da área foliar verde da bananeira, refletindo



em menor número de frutos por cacho, menor número de pencas, menor tamanho de fruto, maturação precoce dos frutos no campo ou em pós-colheita (CORDEIRO & MATOS, 2005). O objetivo do trabalho foi iniciar uma coleção a partir de isolados coletados em diferentes locais e regiões produtoras de banana, dando início à criação da primeira micoteca de *Mycosphaerella musicola* Leach do Nordeste do país.

### **Material e Métodos**

As amostras foram coletadas nas principais microrregiões produtoras de banana da Bahia, a citar: Bom Jesus da Lapa ( Bom Jesus da Lapa), Ilhéus-Itabuna ( Presidente Tancredo Neves, Wenceslau Guimarães, Barro Preto, Gandu e Teolândia), Valença ( Morro de São Paulo) e Vitória da Conquista (Morro de São Paulo). Cada isolado coletado teve a sua informação georeferenciada (GPS – *Global Positioning System*) em cadernetas apropriadas. A princípio, foram feitas coletas em quatro microrregiões, oito municípios, três fazendas em cada município e coletados três amostras em cada propriedade.

As folhas coletadas foram lavadas em água corrente, em seguida mantidas em câmaras úmidas por 48 horas, seguido de verificação de esporulação do patógeno com auxílio de uma lupa. Os esporos de *M. musicola* foram retirados cuidadosamente das lesões e transferidos para lâminas de vidro contendo blocos de ágar-água, para posterior transferência dos conídios para meio V8. Foram colocados mais de um conídio por placa e depois os mesmos transferidos individualmente para placas com meio V8 e espalhados por toda placa. Após 15 dias foi possível visualizar as colônias compactas de coloração acinzentada, crescendo no meio de cultura, podendo dar início aos métodos de preservação que foram feitos em duplicata.

Para a preservação em Castellani foi feito o armazenamento de porções de micélio do fungo em microtubos com 1 mL de água destilada e autoclavada. Os microtubos Castellani foram devidamente identificados e armazenados em temperatura ambiente longe da luz solar direta.

Para a preservação em microtubos com meio BDA (Batata-dextrose-ágar), com o auxílio de um estilete de ponta fina, o micélio do fungo foi acondicionado no meio BDA que se encontrava levemente inclinado. Foram feitos quatro microtubos para cada isolado. Em dois destes, metade do volume foi completado com glicerol, constituindo-se o terceiro método de preservação BDA+glicerol.

A preservação em tiras de papel com sílica gel foi feita vertendo-se leite desnatado (10%) estéril nas placas após a incubação do fungo, visando preparar uma suspensão de inóculo com a raspagem da placa. Em seguida, foram adicionadas tiras de papel filtro dentro das placas de Petri para que ficassem embebidas com a suspensão de leite com o fungo; que foram colocadas para secar na



tampa da placa por cerca de 30 minutos. Os tubos foram preenchidos até  $\frac{3}{4}$  da sua capacidade com sílica gel com indicador de umidade de granulometria de 4 a 8 mm de diâmetro. Na superfície da sílica gel foi colocado um disco de papel filtro de diâmetro igual ao do frasco para receber as tiras de papel após secas e em seguida foram armazenados a 4 °C.

O último método realizado foi o método das esferas de vidro (miçangas), onde após o período de incubação foi vertido leite desnatado (10%) estéril, preparando assim uma suspensão do inóculo com a raspagem da placa. Em seguida, foram adicionadas as miçangas e misturadas à suspensão e posteriormente acondicionadas na tampa das placas para secarem. Posteriormente as miçangas foram colocadas nos microtubos e armazenados a 4 °C.

### **Resultados e Discussão**

As amostras foram coletadas em oito municípios de cinco microrregiões produtoras de banana no Estado da Bahia conforme a Tabela 1. O Estado da Bahia foi considerado na safra 2009/2010 o maior produtor de banana do Brasil com 1.015.505 toneladas, sendo o principal produtor do Estado o município Bom Jesus da Lapa com uma produção de 119.800 toneladas, seguido de Wenceslau Guimarães com 114.000 toneladas, Barra do Choça com 50.400 toneladas, Ibirapitanga com 36.400 toneladas, Ibirataia com 32.500 toneladas, Presidente Tancredo Neves apresentando 24.000 toneladas (SEAGRI, 2012).

Foram coletados 141 amostras nos oito municípios. Destes foi possível isolar e preservar 56 isolados (39,72%) de *Mycosphaerella musicola*. Em geral, a obtenção de cultura pura desse fungo não é fácil, devido o mesmo apresentar crescimento lento e baixa esporulação em substratos artificiais (DANTAS, 1948).

Neste sentido, a obtenção de condições ótimas para o crescimento e reprodução do fungo em meios artificiais constitui-se um pré-requisito importante, facilitando a realização de vários estudos relacionados com a biologia, genética e bioquímica do fungo, de modo a fornecer subsídios básicos para o entendimento da relação patógeno-hospedeiro como, também, para produção de conídios em quantidade suficiente para inoculação de plantas visando à seleção de genótipos resistentes a doença (ROSA & MENEZES, 2001).

**Tabela 1:** Municípios dentro das cinco principais microrregiões produtoras de banana no Estado da Bahia onde foram coletados os isolados.

| Microrregiões        | Municípios          | Isolados coletados por Município | Isolados preservados por Municípios |
|----------------------|---------------------|----------------------------------|-------------------------------------|
| Bom Jesus da Lapa    | Bom Jesus da Lapa   | 18                               | 14                                  |
| Ilhéus-Itabuna       | Barro Preto         | 40                               | 9                                   |
| Ilhéus-Itabuna       | Gandu               | 3                                | 2                                   |
| Ilhéus-Itabuna       | Tancredo Neves      | 13                               | 8                                   |
| Ilhéus-Itabuna       | Teolândia           | 1                                | 1                                   |
| Ilhéus-Itabuna       | Wenceslau Guimarães | 3                                | 1                                   |
| Valença              | Morro de São Paulo  | 3                                | 1                                   |
| Vitória da Conquista | Barra do Choça      | 60                               | 20                                  |
| <b>TOTAL</b>         |                     | <b>141</b>                       | <b>56</b>                           |

Os 56 isolados foram preservados nos cinco métodos diferentes (Figura 1) a citar: Castellani, BDA, BDA+Glicerol, Tiras de papel, Esferas de vidro (miçangas).

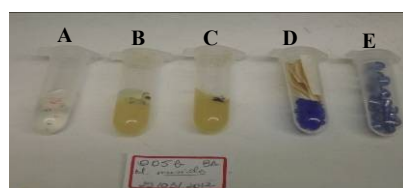


Figura 1: Métodos de preservação do fungo *M. musicola*, a citar: Castellani (A), BDA (B), BDA+Glicerol (C), Tiras de papel com sílica gel (D), Esferas de vidro (miçangas) (E).

### Conclusão

Está sendo possível dar início à construção da primeira micoteca de *M. musicola* do Nordeste brasileiro com as metodologias de preservação empregadas, a citar: Castellani, BDA, BDA + glicerol, tiras de papel com sílica gel e esferas de vidro.

### Referências Bibliográficas

- CORDEIRO, Z.J.M; MATOS, A.P. Expressão da Resistência de Variedades de Banana à Sigatoka-Amarela. **Fitopatologia Brasileira** v. 30, p. 532-534. 2005.
- DANTAS, B. A ocorrência da “ Cercosporiose” da bananeira no Brasil, *Cercospora musae* Zimm. **Boletim Técnico do Instituto Agrônômico do Norte** 14:1-29. 1948
- FOURÉ, E. Leaf spot disease of Banana and Plantain caused by *Mycosphaerella musicola* and *Mycosphaerella fijiensis*. In: CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL MUSA TESTING PROGRAM HELD AT FHIA, Honduras. Proceedings...Montpellier: **INIBAP** p.37-46, 1994.
- ROSA, R.C.T.; MENEZES, M. Caracterização patogênica, fisiológica e morfológica de *Pseudocercospora musae*. **Fitopatologia Brasileira** v. 26, p. 141-147. 2001.