

15704 - Suspensão miceliada de *Agaricus brasiliensis* na germinação de *Plasmopara viticola*, agente causal do míldio da videira

Suspension of mycelia of Agaricus brasiliensis on germination of Plasmopara viticola, causal agent of vine mildew

OLIARI, Ires Cristina Ribeiro, GARCIA¹, Carla; FEDRIGO, Katiane¹; MARCHI, Thiago¹; MENEGASSI, Tainara², SANTA, Herta Stutz Dalla³, FARIA, Cacilda Márcia Duarte Rios⁴

¹Mestrandos - Universidade Estadual do Centro-Oeste - Unicentro, irescristina21@hotmail.com, carlagaciaagro@gamil.com, katienefedrico@hotmail.com, marchithiago@yahoo.com.br, ²Acadêmica de Agronomia - Universidade Estadual do Centro-Oeste – Unicentro, tai_menegassi@hotmail.com,

³Professora Bióloga, Dr^o. - Universidade Estadual do Centro-Oeste – Unicentro, herta@unicentro.com, ⁴Professora Eng^o. Agro^o, Dr^o. - Universidade Estadual do Centro-Oeste – Unicentro, criosfaria@hotmail.com.

Resumo:A viticultura depara-se com fatores limitantes que interferem na produtividade, como a ocorrência do míldio, que tem como agente causal *Plasmopara viticola*. Como forma de controle desse patógeno, o presente trabalho teve como objetivo testar doses da suspensão aquosa miceliada de *A. brasiliensis* na germinação do patógeno. Foram utilizadas as doses de 1%, 5%, 10%, 15% e 20% da suspensão aquosa miceliada de *Agaricus brasiliensis*, o acibenzolar-S-metil (ASM) e testemunha absoluta (sem tratamento). Nas cavidades de placas para teste ELIZA foi adicionado 40 µL da suspensão de esporos de *P. viticola* ajustada a 10⁶ esporângios mL⁻¹ e outra dessa mesma quantidade de cada tratamento, posteriormente as placas foram incubadas em câmara de crescimento a 25 °C no escuro. Decorridos os períodos de 6 h e 12 h foi adicionado 20 µL de corante azul algodão de lactofenol, para que ocorresse a paralisação da germinação dos esporângios. Observou-se que em ambos os períodos a dose de 1% da suspensão aquosa miceliada de *A. brasiliensis* estimulou a germinação de *P. viticola*, porém as demais reduziram em mais de 50% em 6 h e 12 h.

Palavras-chave: Cogumelo; controle alternativo; esporângios.

Abstract:Viticulture is faced with limiting factors that affect productivity, such as downy mildew, whose causal agent *Plasmopara viticola*. As a way to control this pathogen, this study aimed to test doses of miceliada aqueous suspension of *A. brasiliensis* in the germination of the pathogen. Doses of 1, 5, 10, 15 and 20% of the aqueous suspension miceliada *Agaricus brasiliensis*, acibenzolar -S- methyl (ASM) and absolute control (untreated) were used. In the wells of test plates for ELIZA was added 40 µL of the spore suspension of *P. viticola* adjusted to 10⁶ sporangia mL⁻¹ and another of the same amount of each treatment, plates were subsequently incubated in a growth chamber at 25° C in the dark chamber ml. After periods of 6 and 12 hours was added 20 µL of lactophenol cotton blue dye, so that the stoppage occurred germination of sporangia. It was observed that in both periods dose of miceliada 1% aqueous suspension of *A. brasiliensis* stimulated germination of *P. viticola*, but the other reduced by more than 50% at 6 and 12 hours.

Keywords: alternative control; mushroom; sporangia.

Introdução

No Brasil a viticultura ocupa uma área de 83 mil hectares, distribuídas desde o extremo sul até o nordeste, porém depara-se com alguns entraves que interferem na produtividade e na qualidade do produto final. Dentre esses problemas está a

ocorrência de fitopatógenos, como o oomiceto *Plasmopara viticola*, agente causal do míldio da videira, sendo uma das principais doenças da região Sul (SÔNEGO et al., 2006; MELLO, 2013).

Os sintomas do míldio são observados nas partes aéreas da planta, principalmente nas folhas, que conseqüentemente acarreta redução da área fotossintética ativa da planta e desfolha precoce, comprometendo a safra anual (SÔNEGO, 1998; TAVARES;CRUZ, 2002; NETO, 2008).

Para o controle dessa doença basicamente são utilizados fungicidas sintéticos, que apesar da eficiência desencadeia problemas de resistência a patógenos, fitotoxidez, poluição ambiental e contaminação dos subprodutos da uva (PERUCH et al., 2007).

Como forma de reduzir ou eliminar esses impactos, buscam-se medidas alternativas a esses produtos, como os compostos ativos presentes nos cogumelos com capacidade de agir sobre o patógeno. Dentre esses está o *Agaricus brasiliensis*, que possui substâncias bioativas que podem atuar como antibióticos, bacteriostáticos, fungistáticos e nematostáticos (SCHWAN-ESTRADA et al., 2012).

Fiori-Tutida et al. (2007) observaram que o cogumelo *Agaricus blazei* e *Lentinula edodes* apresentaram efeitos fungitóxicos sobre a germinação de *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*.

Baseando-se nesse fato, o presente trabalho teve como objetivo testar a suspensão miceliada aquosa de *A. brasiliensis* na germinação de *P. viticola*.

Material e métodos

Preparo da suspensão aquosa miceliada de *Agaricus brasiliensis*

O micélio do cogumelo *A. brasiliensis* foi cedido pelo laboratório de bioprocessos de Cogumelos-DEALI-UNICENTRO. As doses referentes aos experimentos foram pesadas e maceradas mecanicamente em almofariz. Posteriormente, foi adicionada água destilada e trituradas em liquidificador, para se obter maior efetividade da extração dos compostos bioativos presentes no cogumelo.

Suspensão aquosa miceliada de *Agaricus brasiliensis* na germinação de *Plasmopara viticola*

Em folhas de videiras com sintomas típicos de míldio foram adicionados 100 mL de água destilada esterilizada com 20 µL de Tween 80 e com auxílio de alça de Drigalski realizou-se um esfregaço sobre o mofo branco, que conseqüentemente ocasionou a liberação dos esporângios, seguida de uma padronização da suspensão com 10^6 esporângios mL⁻¹, com contagem em câmara de Neubauer (hemacitômetro).

Os tratamentos testados no controle da germinação desses esporângios foram doses de 1%, 5%, 10%, 15% e 20% da suspensão aquosa miceliada de *A.*

brasilensis, acibenzolar-S-metil (ASM) (0,05 g 1000 mL⁻¹) e testemunha absoluta (sem tratamento).

Alíquotas de 40 µL da suspensão do patógeno e outra de 40 µL da suspensão miceliada de cada um dos tratamentos foram colocadas em cavidades individuais de placas de teste de ELISA (RESENDE et al., 1997).

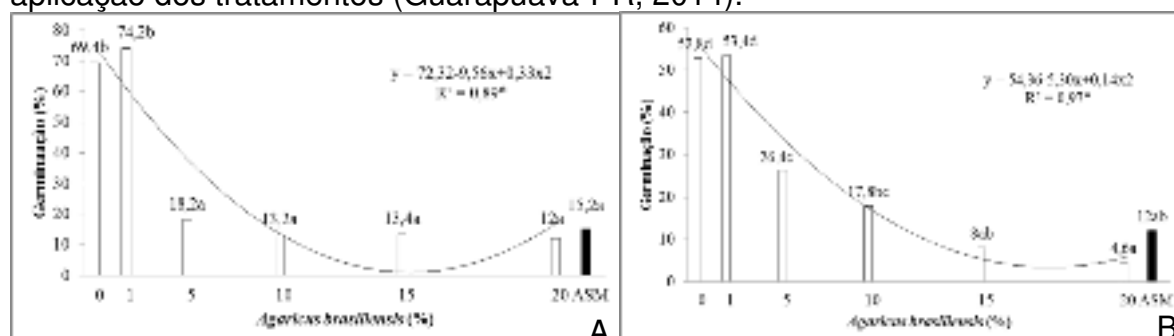
Em seguida, as placas foram mantidas em câmara de crescimento a 25°C no escuro, cada uma correspondendo aos períodos de 6 horas e 12 horas. Para que ocorresse o processo de paralisação da germinação dos esporângios foram adicionados 20 µL do corante azul algodão de lactofenol em cada cavidade, no horário previsto para avaliação. Posteriormente avaliou-se a porcentagem de esporângios germinados, observados aleatoriamente com auxílio do microscópio óptico de objetiva invertida, totalizando cinco repetições. Foram considerados esporângios germinados aqueles que apresentaram liberação dos zoósporos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com sete tratamentos e cinco repetições. Os dados foram submetidos a análise da variância e teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, através do programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2011).

Resultados e discussões

A dose de 1% da suspensão miceliada aquosa de *A. brasilensis* estimulou em 107% e 101% a germinação de *P. viticola* em ambos os períodos. A suspensão em 5%, 10%, 15% e 20% em 6 h não apresentou diferença estatística do tratamento padrão (ASM) proporcionando redução acima de 70% na germinação do patógeno. Em 12 h essa queda foi maior que 50% decorrentes aos tratamentos avaliados (Figura 1).

Figura 1. Germinação de esporângios de *Plasmopara viticola* submetidos às doses de 1; 5; 10; 15 e 20% suspensão aquosa miceliada de *Agaricus brasilensis* e como tratamento padrão acizenzolar-S-metil. Nos períodos de: (A) 6h e (B) 12h, após a aplicação dos tratamentos (Guarapuava-PR, 2014).



* Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Segundo Stangarlin et al. (2011) os cogumelos apresentam compostos fenólicos que possuem efeitos antibacterianos, antiviróticos e fungitóxicos. Provavelmente foi a ação dessas moléculas bioativas que reduziram a germinação de *P. viticola*. Porém na dose de 1% possivelmente esses compostos estavam em baixa concentração para ocasionar toxicidade ao patógeno.

Fiori-Tutida et al. (2007) também verificaram que extratos brutos obtidos a partir do pó seco de *A. blazei* e *Lentinula edodes* inibiram a germinação de *Bipolaris sorokiniana* e *Puccinia recondita*, podendo ser ressaltado que os extratos reduziram mais que 50% a germinação dos esporos do patógeno biotrófico (*P. recondita*).

Conclusões

A dose de 1% da suspensão aquosa miceliada de *A. brasiliensis* estimulou a germinação de *P. viticola*, porém as demais reduziram em mais de 50% em 6h e 12h.

Referencias

FERREIRA, D.F. SISVAR: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p.1039-1042. 2011.

FIORI-TUTIDA, A. C. G.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Extratos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* sobre *Bipolaris sorokiniana* e *Puccinia recondita* f. sp. tritici, *in vitro*. **Summa Phytopathologica**, v. 33, p. 287-289. 2007.

MELLO, L.M.R. **Vitivinicultura brasileira: Panorama 2012**, Bento Gonçalves, Embrapa: uva e vinho, 2013 (Embrapa Comunicado Técnico, 137).

NETO, E. **O míldio da videira**. Patação: Estação de Avisos agrícolas de Algave: 2008. 17 p.(DRAP Algarve. Boletim Técnico, 17).

PERUCH, L.A.M.; MEDEIROS, A.M.de.; BRUNA, E.D.; STADINIK, M. Biomassa cítrica, extrato de algas, calda bordalesa e fosfitos no controle do míldio da videira, cv. Niágara branca. **Revista de ciências Agroveterinárias**, v.6, p. 143-148. 2007.

RESENDE, M.C.; OLIVA, C.R.; FELDMAN, M.L.; CASTAGNARO, A.P.; CANAL, L. A sunflower leaf antifungal peptide activa against *Sclerotinia sclerotiorum*. **Physiologia Plantarum**, v. 100, p. 178-182. 1997.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; BONALDO, S.M. Uso de extratos vegetais e cogumelos na indução de resistência a patógenos. In: RODRIGUES, F de A.; FORTUNATO, A.A.; RESENDE, R.S. **Indução de resistência em plantas a patógenos**. 22 ed. Universidade Federal de Lavras, 2012, p.09-28.

SÔNEGO, O.R. **Considerações sobre o controle do míldio da videira**. Embrapa, 1998, 4p. (Embrapa. Boletim técnico, 27).

SÔNEGO, O.R.; GARRIDO, L. da R.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A. Principais doenças fúngicas da videira no Sul do Brasil. Bento Gonçalves. **Circular Técnica, 56**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2006. 34p.

STANGARLIN, J.R.; LEITE, B. Alterações fisiológicas na suscetibilidade. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. **Interação planta-patógenos: fisiologia, bioquímica e biologia molecular**, v. 13, p.177-284. 2011.

TAVARES, S.C.C.H.; CRUZ, S.C. da. Doenças causadas por fungos. In: LIMA, M.F.; MOREIRA, W.A. Frutas do Brasil: **Uva de mesa: Fitossanidade**. Brasília, Embrapa informação Tecnológica, p.9-26. 2002.