

OBJETIVOS DE
DESENVOLVIMENTO
SUSTENTÁVEL



**Anais da XVI Jornada
de Iniciação Científica da
Embrapa Amazônia Ocidental**

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Ocidental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Anais da XVI Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental

*Cláudia Majolo
Inocencio Junior de Oliveira
Jony Koji Dairiki
Maria Geralda de Souza
Ronaldo Ribeiro de Moraes
Editores Técnicos*

Embrapa
Brasília, DF
2020

Embrapa Amazônia Ocidental
Rodovia AM-010, Km 29,
Estrada Manaus/Itacoatiara,
Manaus, AM
69010-970
Caixa Postal 319
Fone: (92) 3303-7800
Fax: (92) 3303-7820
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

**Unidade responsável pelo
conteúdo e edição**
Embrapa Amazônia Ocidental

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente
Everton Rabelo Cordeiro

Secretária-executiva
Gleise Maria Teles de Oliveira

Membros
José Olenilson Costa Pinheiro, Maria Augusta Abtibol Brito de Sousa e Maria Perpétua Beleza Pereira

Revisão de texto
Maria Perpétua Beleza Pereira

Normalização bibliográfica
Maria Augusta Abtibol Brito de Sousa

Projeto gráfico e editoração eletrônica
Gleise Maria Teles de Oliveira

1ª edição
Publicação digital (2020)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610)

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Amazônia Ocidental

Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental (16 : 2019 : Manaus).
Anais da XVI Jornada Científica da Embrapa Amazônia Ocidental / Claudia Majolo ... [et al.], editores técnicos. – Brasília, DF : Embrapa, 2020.
PDF (130 p.) : il. color.

ISBN 978-65-86056-10-5

1. Iniciação científica. 2. Comunicação científica. 3. Pesquisa. I. Majolo, Cláudia. II. Título. III. Embrapa Amazônia Ocidental.

CDD 501

Desempenho do meio de cultura à base de farelo-vermiculita modificado na produção artificial de basidiocarpos de *Moniliophthora perniciosa*

Larissa Brasil Franco¹

Maria Geralda de Souza²

Marcelo Róseo de Oliveira³

Felipe Morais Cordeiro⁴

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho do meio de cultura à base de farelo-vermiculita modificado na produção artificial de basidiocarpos de *Moniliophthora perniciosa* em diferentes recipientes (placa de Petri, embalagem de alumínio e pote de vidro), cobertura (hastes de cupuaçuzeiro, composto orgânico) sob fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25° C ± 1. A variável avaliada foi a produção de basidiocarpos em cada tratamento. Paralelamente foi avaliada a produção de basidiocarpos em condições de campo e vassoureiro (telados) em vassouras secas. O delineamento foi o inteiramente casualizado com quatro repetições. Houve a produção das “bolachas” em todos os meios e recipientes utilizados, não houve produção de basidiocarpos nas bolachas nem nas hastes no pote. Houve produção de basidiocarpos nas vassouras secas no campo e nos vassoureiros.

Termos de indexação: cupuaçuzeiro, Basidiomycota, vassoura-de-bruxa.

¹Bolsista de Iniciação Científica, Paic/CNPq/Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

²Engenheira florestal, doutora em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

³Biólogo, doutor em Biotecnologia, analista da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

⁴Bolsista de Iniciação Científica, Paic/Fapeam/Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

Performance of the modified bran-vermiculite based culture medium in the artificial production of *Moniliophthora perniciosa* basidiocarps

Abstract – The objective of this work was to evaluate the performance of the culture medium based on modified bran-vermiculite, in the artificial production of *Moniliophthora perniciosa* basidiocarps in different containers (Petri dish, aluminum packaging and glass pot), cover (cupuaçuzeiro stems), (organic compound) under 12 hours photoperiod and temperature of $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. The evaluated variable was the production of basidiocarps in each treatment. At the same time, basidiocarp production was evaluated in field conditions and in brooms (screened) on dry brooms. The design was completely randomized with four replications. There was the production of "crackers" in all media and containers used, there was no production of basidiocarps in the crackers or in the stems in the pot. Basidiocarps were produced in dry brooms in the field and in brooms.

Index terms: cupuaçuzeiro, Basidiomycota, witch's broom.

Introdução

O fungo *Moniliophthora perniciosa* é o patógeno causador da doença vassoura de bruxa, que tem entre os hospedeiros culturas economicamente importantes, como cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) e cacau (*Theobroma cacao*). Esse fungo pertence à ordem Agaricales, família Marasmiaceae (Aime; Phillips-Mora, 2005). Para viabilizar a produção artificial de esporos desse fungo é fundamental o uso de substrato que condiciona bom crescimento micelial com alta esporulação. Para conhecer melhor o fungo e sua interação com os hospedeiros faz-se necessária a produção regular de basidiósporo do fungo, uma vez que esta é a única forma infectiva do patógeno (Bastos, 1986). Vários autores tiveram sucesso na tentativa de obter frutificação do fungo em meios de cultura (Purdy et al., 1983; Bastos;

Andebrhan, 1987; Pickering; Hedger, 1987; Purdy; Dickstein, 1990; Niella et al., 1999). Contudo, foi o trabalho de Griffith e Hedger (1993) que avançou na produção artificial de basidiocarpos de *M. perniciosa*. Isolado do fungo de cupuaçuzeiro foi testado pelo meio descrito por esses autores com sucesso por Stein et al. (1996). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho do meio de cultura à base de farelo-vermiculita modificado na produção artificial de basidiocarpos de *M. perniciosa*.

Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Ocidental. Preparou-se um meio sólido à base de farelo-vermiculita utilizando farelo de trigo e de soja. Os meios foram distribuídos em três recipientes: potes de vidro, placas de Petri e bandejas de alumínio (12 cm x 16 cm), com quatro repetições cada. Preparo do meio: 50 g de farelo de trigo/soja, 40 g vermiculita, 12 g de $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ e 1,5 de CaCO_3 , mais adição de 125 mL de água destilada. A mistura foi homogeneizada até a obtenção de uma textura consistente. Em seguida, 30 g da mistura foram distribuídos em cada recipiente e autoclavados. Posteriormente, na câmara de fluxo, foram repicados quatro discos de micélio, retirados da cultura e desenvolvidos em meio de batata-sacarose-ágar (BSA) por 7 dias, para os meios em pote de vidro e placa de Petri.

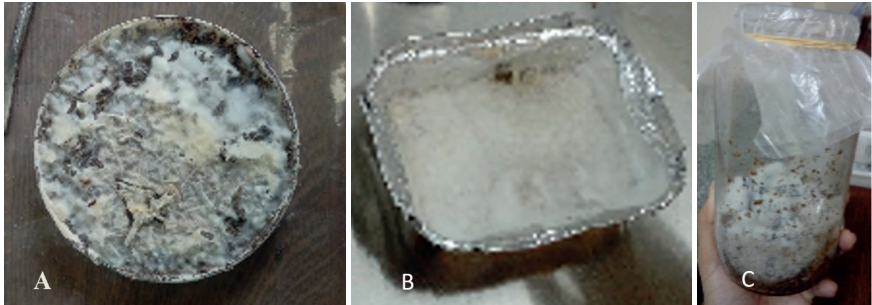
Para os meios em bandejas de alumínio foram repicados seis discos. Após a repicagem os materiais foram devidamente vedados e levados para sala de crescimento com temperatura de 25 °C por 3 semanas (Griffith; Hedger, 1993) para a incubação. Após a colonização total do meio, os recipientes foram abertos em câmara de fluxo e adicionados 15 g de cobertura constituída das seguintes combinações: mistura de 50 g de CaCO_3 , 50 g de vermiculita, 200 g de terra preta + vassoura seca triturada e adicionados 125 mL de água destilada nas bandejas e placas de Petri. Nos potes de vidro foi utilizada a mesma

cobertura, entretanto as vassouras trituradas foram substituídas por quatro hastes de 10 cm de vassoura seca autoclavadas, afixadas verticalmente ao meio; e quatro hastes de 10 cm de vassoura seca autoclavadas, afixadas verticalmente ao meio, foram usadas como cobertura. Posteriormente, os recipientes foram fechados e retornaram à sala de crescimento para mais 3 semanas de incubação. Após esse período, os meios totalmente colonizados pelo micélio (bolachas) foram colocados em redes plásticas (redes para laranja) e pendurados em vassoureira (caixa de vidro de 90 cm x 60 cm x 37cm) a 25 °C, com 12 horas de fotoperíodo (Niella et al., 1999). Os meios com as hastes colonizadas foram pendurados com as aberturas dos potes voltadas para baixo. Realizou-se o molhamento por 8 horas, com instalação de umidificador elétrico e com auxílio de atomizadores de água (800 mL/dia) para manutenção da umidade. Após 20 dias foi suspensa a irrigação por 4 dias (estresse hídrico) para a indução de produção dos basidiocarpos do fungo. Após o estresse hídrico foram feitas avaliações diárias quanto à produção de basidiocarpos. O delineamento foi em blocos casualizados com quatro repetições, um material por repetição. Utilizaram-se vassouras secas de cupuaçuzeiro em vassoureira sob condições naturais como parâmetro de produção de basidiocarpos nos meses do ano.

Resultados

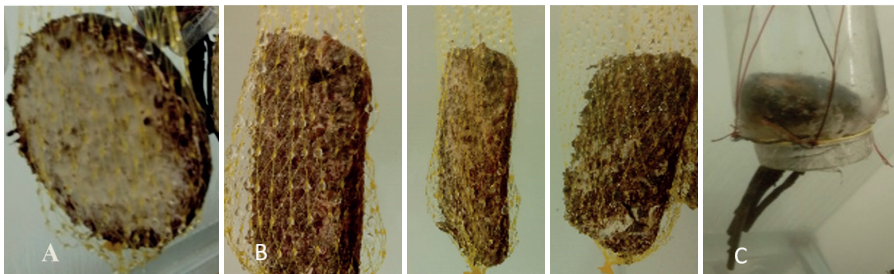
O fungo colonizou completamente todos os meios à base de farelo-vermiculita em todos os recipientes utilizados (Figura 1). O mesmo resultado foi obtido após a adição da camada de cobertura. Entretanto não houve, em nenhuma das combinações (meio de cultura x cobertura e recipiente), produção de basidiocarpos nas bolachas formadas e penduradas (Figura 2).

O meio à base de farelo de soja proporcionou mais rapidez na colonização do fungo, com 7 dias em relação ao de trigo, que ocorreu com 13 dias. Houve produção de basidiocarpo do fungo em vassouras secas no campo e no vassoureira no mesmo período (Tabela 1).



Fotos: Maria Geralda de Souza

Figura 1. Colonização de *Moniliophthora perniciosa* em meio farelo-vermiculita em: placa de Petri (A); bandeja de alumínio (B); e pote de vidro (C).



Fotos: Maria Geralda de Souza

Figura 2. Bolachas penduradas – Colonização de *Moniliophthora perniciosa* em placa de Petri (A); bandeja de alumínio (B); e pote de vidro (C).

Tabela 1. Produção de basidiocarpos coletados em campo e vassoureiro nos meses de março, abril e maio.

Meses	Quantidade de Basidiocarpo	
	Vassoureiro	Campo
Março	110	59
Abril	323	213
Maio	38	112
Total	471	384

Discussão

Griffith e Hedger (1993) obtiveram mais de 70% de produção de basidiocarpos de diferentes isolados de *M. pernicioso* após 2-12 semanas da incubação das bolachas, numa média de 15 basidiocarpos por bolacha. Niella et al. (1999) avaliaram a produção de basidiocarpos isolados de cacau, com média de 9,23; 18,88 e 3,95 basidiocarpos por faces cobertas. Em cupuaçuzeiro, Stein et al. (1996) obtiveram produção de basidiocarpos em meio farelo-vermiculita após 70 dias da transferência das bolachas para o telado. No presente trabalho, apesar de não ter havido produção de basidiocarpos em meio artificial, observou-se, nas bolachas com a cobertura de terra preta após 1 semana, uma mudança na coloração, inicialmente branca com posterior escurecimento até ficar com uma cor púrpura. Essa coloração normalmente antecede o aparecimento dos primórdios dos basidiocarpos. Paralelamente, a produção no vassoureiro e campo em condições naturais começou no início de março com pico em abril até o mês de maio (Tabela 1). Outro fator importante para induzir a formação de frutificação de *M. pernicioso* em meios artificiais, visando à independência do campo, é o tempo de exposição das bolachas à umidade acima de 90% nas caixas de vidro, o que pode ter causado o apodrecimento precoce das bolachas antes da produção dos basidiocarpos. Segundo Nieuwenhuijzen (2007), isso explica por que a pulverização excessiva de água em cogumelos prejudica o amadurecimento, podendo provocar estragos nessa cultura, favorecendo o desenvolvimento de bactérias e causando o apodrecimento deles.

Quanto à terra de cobertura, aparentemente o melhor meio utilizado foi à base de Terra Preta de Índio (TPI). Segundo Teixeira (2008), a TPI é rica em matéria orgânica com elevada concentração de carbono. Verificou-se que a metodologia necessita de mais ensaios para ajustes principalmente na manutenção das bolachas no vassoureiro, no tempo de molhamento, na temperatura e quantidade de luz, e nos nutrientes na terra de cobertura para favorecimento da produção dos basidiocarpos.

Conclusões

Conclui-se que os meios de cultura à base de farelo-vermiculita modificado utilizados tiveram bom desempenho para a colonização do fungo, produzindo massa micelial. Entretanto, no período de avaliação do experimento, não houve produção de basidiocarpos de *M. pernicioso*.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de iniciação científica do Programa Pibic; a Ricardo Rebello Pessoa, técnico de apoio à pesquisa, pelo apoio e pelos ensinamentos no laboratório; a Pamela Keiko Harada, pelas sugestões apresentadas; e a Antônio Salomão Cruz, pelo apoio nos trabalhos de campo.

Referências

AIME, M. C.; PHILLIPS-MORA, W. The causal agents of witches' broom and frosty pod rot of cacao (chocolate, *Theobroma cacao*) form a new lineage of Marasmiaceae. **Mycologia**, v. 97, p. 1012-1022, 2005.

BASTOS, C. N. **Comparação morfológica e patológica de isolados de *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer**. Belém, PA: CEPLAC: DEPEA, 1986. p. 45-49. (CEPLAC. Informe Técnico).

BASTOS, C. N.; ANDEBRHAN, T. In vitro production basidiospores of *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer, the causative agent of witches' broom disease of cocoa (*Theobroma cacao* L.). **Transactions of the British Mycological Society**, v. 88, n. 3, p. 406-409, Apr. 1987.

GRIFFITH, G. W.; HEDGER, J. N. A novel method for producing basidiocarps of the cocoa pathogen *Crinipellis pernicioso* using a bran-vermiculite médium. **Netherland Journal of Plant Pathology**, v. 99, p. 227-230, 1993.

NIELLA, G. R.; CASTRO, H. A.; SILVA, L. H. C. P.; CARVALHO, J. A.

Aperfeiçoamento da metodologia de produção artificial de basidiocarpos de *Crinipellis pernicioso*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 24, n. 4, p. 523-527, 1999.

NIEUWENHUIJZEN, B. V. **O cultivo de cogumelos em pequena escala – 2:**

Agaricus e *Volvariella*. Wageningen: Bramvan Fundação Agromisa: CTA, 2007.

PICKERING, V.; HEDGER, J. N. Production of basidiocarps of the witch's broom pathogen *Crinipellis pernicioso* in vitro. **Transaction of the British**, v. 88, p. 404-406, 1987.

PURDY, L. H.; DICKSTEIN, E. R. Basidiocarp development on mycelial mats of *Crinipellis pernicioso*. **Plant Disease**, v. 74, p. 493-496, 1990.

PURDY, L. H.; TRESE, A. T.; ARAGUNDI, J. A. Proof of pathogenicity of *Crinipellis pernicioso* to *Theobroma cacao* using basidiopores produced in vitro cultures.

Revista Theobroma, v. 13, p. 157-163, 1983.

STEIN, R. L. B.; ITO, T.; ALBUQUERQUE, F. C. de; NASCIMENTO, R. M.

do. **Produção artificial de basidiocarpos de *Crinipellis pernicioso* do cupuaçuzeiro em meio de farelo-vermiculita**. Belém, PA: EMBRAPA-CPATU, 1996. 15 p. (EMBRAPA-CPATU. Boletim de pesquisa, 167).

TEIXEIRA, W. G. Terra Preta de Índio: fatos e mitos dos solos antrópicos da

Amazônia. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 28.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 12.; SIMPÓSIO

BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 10.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 7., 2008, Londrina. **FertBio 2008:** desafios para o uso do

solo com eficiência e qualidade ambiental: anais. Londrina: Embrapa Soja: SBCS:

IAPAR, UEL, 2008. 1 CD-ROM. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/186295/1/Teixeira-2008-Terra-Preta-Fatos-e-mitos.pdf>. Acesso

em: 26 abr. 2020.