

INIBIÇÃO DA GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE ESPORANGÍOSPOROS DE *Plasmopara viticola* POR PRODUTOS ALTERNATIVOS

Ana Paula dos Santos Santana^{1*}; Rosemeire de Lellis Naves²; Marli de Fátima Stradioto Papa¹, Eryca Cristina Zerbato Teixeira³; Aparecida Conceição Boliani¹

¹UNESP/FEIS, Av. Brasil nº 56, 15385-000, Ilha Solteira, SP; ²Embrapa Uva e Vinho/EEVT, C.P. 241, 15700-971, Jales, SP; ³UNIJALES, Av. Francisco Jales, 1981, Centro, Jales, SP. *Bolsista FAPESP/Proc. 2009/07070-9. E-mail: apsantabio@bol.com.br

INTRODUÇÃO

O míldio, causado pelo pseudo-fungo *Plasmopara viticola* (Berk. & Curt) Berl. de Toni, é uma doença que ocorre na videira em todo o mundo (Brown et al, 1999a), assumindo grande importância em regiões quentes e úmidas (Lafon & Clerjeau, 1988). O patógeno afeta todas as partes verdes da planta, como folhas, ramos, inflorescências e frutos, reduzindo a quantidade e qualidade da produção (Lafon & Clerjeau, 1988). Os sintomas manifestam-se como lesões amareladas, translúcidas contra o sol, denominadas de “mancha de óleo” na superfície adaxial das folhas, resultantes da destruição da clorofila e como lesões necróticas que podem coalescer, formando grandes áreas necróticas (Brown et al, 1999b). Os sinais característicos do míldio são esporangióforos e esporângios brancos que emergem dos estômatos, na superfície abaxial da folha (Emmett et al, 1992). As plantas atacadas podem sofrer desfolha precoce, o que causa uma redução nas suas reservas de energia (Brown et al, 1999b).

O programa de controle de doenças efetuado nas regiões tropicais produtoras de uvas de mesa envolve aplicação maciça de fungicidas, fazendo com que o custo para o controle de doenças fique em torno de 20% dos custos de manutenção da cultura. Dessa forma, torna-se necessária a busca de alternativas que permitam a redução do número de aplicações de fungicidas e, conseqüentemente, os custos de produção e os riscos de contaminação do ambiente.

O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de produtos alternativos aos fungicidas convencionais na inibição da germinação *in vitro* de esporangiósporos de *P. viticola*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram desenvolvidos nos laboratório da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - FEIS, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, em Ilha Solteira e da Embrapa Uva e Vinho/Estação Experimental de Viticultura Tropical, em Jales, ambos municípios do Estado de São Paulo.

Foram coletados esporangiósporos de *P. viticola* de folhas de videira com sintomas de míldio no campo em época favorável ao surgimento da doença, os quais foram utilizados nos ensaios. O efeito de extratos aquosos e hidroetanólicos

de folhas de melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.) e pacari (*Lafoensia pacari* St. Hil.) na concentração de 20% em relação ao volume, óleo de nim (*Azadiracta indica* L.) - 1000 µg.ml⁻¹ e de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) - 0,3% v/v, quitosana - 400 µg.ml⁻¹, biomassa cítrica - 0,6% v/v (Ecolife[®]), silicato de potássio - 0,01 g ml⁻¹ (Fertisil[®]), fosfito de potássio - 1000 µg ml⁻¹ (Nutri-Phite[®]), acibenzolar-S-methyl -1000 µg.ml⁻¹ (Bion[®]), metalaxil+mancozebe - 100 µ g.ml⁻¹ (Ridomil[®]) e azoxistrobina - 0,01 g.ml⁻¹ (Amistar[®]) na inibição da germinação *in vitro* de esporangiósporos de *P. viticola* foi avaliado. Para tanto, uma suspensão de 2 x 10⁵ esporangiósporos foi adicionada aos orifícios de placas tipo “Elisa”, cada um contendo um produto a ser avaliado. Após as placas permanecerem a 20°C, no escuro, por doze horas, a germinação foi paralisada por meio da adição de lactoglicerol. Em seguida, a porcentagem de germinação foi avaliada contando-se o número de esporangiósporos germinados. Como testemunha foi utilizada água deionizada esterilizada.

O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado e os tratamentos foram constituídos pelos produtos avaliados, com cinco repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, comparando-se as médias pelo teste de Scott & Knot (1974), ao nível de 5 % de probabilidade.

As médias dos tratamentos foram comparadas com a testemunha, calculando-se o Percentual de Inibição da Germinação de esporangiósporos (PIG). O experimento foi repetido duas vezes, utilizando-se o valor médio da porcentagem de germinação e do PIG para a análise estatística. O PIG foi calculado pela fórmula:

$$\text{PIG} = \left(\frac{\%GTEST - \%GTRAT}{\%GTEST} \right) \times 100,$$

onde: %GTEST: porcentagem de germinação na testemunha

%GTRAT: porcentagem de germinação no tratamento

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre os efeitos de todos os produtos testados na germinação de esporangiósporos de *P. viticola* em relação à testemunha. Os maiores PIG observados foram os causados pela exposição dos esporangiósporos aos extratos aquosos e hidroetanólicos de pacari e melão-de-são-caetano, bem como pela biomassa cítrica (Ecolife[®]), que variaram de 85,45% a 92,40%.

A atividade antifúngica de plantas do cerrado brasileiro tem sido relatada (Souza et al, 2002) e melão-de-são-caetano e pacari, de fato, parecem ter atividade antimicrobiana. A atividade antifúngica de extratos de melão-de-são-caetano a *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. (Penz. & Sacc.) foi demonstrada por Celoto et al. (2008). Outros relatos mencionam a atividade inibitória de extratos de pacari sobre *C. gloeosporioides*, *Corynespora cassicola* (Berk & Curtis) (Naruzawa, 2005; Naruzawa et AL, 2005) e *Colletotrichum musae* (Berk & Curtis) Arx (Silva, 2008).

Tabela 1: Porcentagem de germinação de esporangiósporos de *Plasmopara viticola* expostos a extratos de plantas, óleos essenciais e diferentes produtos químicos e porcentual de inibição da germinação em relação à testemunha.

TRATAMENTO	GERMINAÇÃO DE ESPORANGIÓSPOROS (%)	PORCENTAGEM DE INIBIÇÃO DA GERMINAÇÃO (PIG)
Testemunha	92,10 A	0,00 A
azoxistrobina	34,40 B	62,50 B
metalaxil + mancozebe	32,80 B	64,39 B
fosfito de potássio	31,30 B	66,02 B
ASM ¹	30,10 B	67,31 B
quitosana	28,40 B	69,12 B
Óleo de tomilho	25,20 C	72,64 C
Óleo de nim	23,00 C	75,03 C
silicato de potássio	19,60 C	78,72 D
EH MSC ²	13,40 D	85,45 E
EAP ³	12,50 D	86,42 E
Biomassa cítrica	9,40 E	89,79 E
EHP ⁴	8,40 E	90,88 E
EA MSC ⁵	7,00 E	92,40 E

Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott & Knot ($P \leq 0,05$).

¹ASM - acibenzolar-S-methyl; ²EH MSC – extrato hidroetanólico de melão-de-são-caetano; ³EAP – extrato aquoso de pacari; ⁴EHP- extrato hidroetanólico de pacari; ⁵EA MSC – extrato aquoso de melão-de-são-caetano.

Considerado como um produto revigorante e anti-estresse para plantas, ao Ecolife[®] (biomassa cítrica) é atribuída ação sinérgica e melhora do vigor e da resistência das plantas às doenças. O produto já foi também classificado como bom erradicante em estudos realizados por Hanada et al. (2004), nos quais inibiu totalmente a germinação de conídios de *Mycosphaerella fijiensis* aderidos sobre frutos de banana. Efeito inibitório de Ecolife[®] sobre o crescimento micelial e germinação de esporos de *Colletotrichum lagenarium* e *Fusarium semitectum* foi observado por estudos realizados por Motoyama et al (2002).

Os extratos aquosos e hidroetanólicos de melão-de-são-caetano e pacari e a biomassa cítrica foram mais eficientes na inibição da germinação dos esporangiósporos que os fungicidas convencionais azoxistrobina (Amistar[®]) e metalaxil + mancozebe (Ridomil[®]), produtos usados no controle do míldio no campo, demonstrando o potencial dos mesmos para serem utilizados num programa de controle da doença na cultura da videira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BROWN, M.V.; MOORE, J.N.; FENN, P.; MCNEW, R. W. Comparison of leaf disk, greenhouse, and fiel screening procedures for evaluation of grape seedlings for downy mildew resistance. *HortScience*, v.34, n. 2, p.331-333, 1999a.
- BROWN, M.V.; MOORE, J.N.; MCNEW, R. W.; FENN, P. Inheritance of downy mildew resistance in table grapes. *Journal of American Society of Horticultural Science*, v.124, n.3, p.262-267, 1999b.
- CELOTO, M.I.B.; PAPA, M.F.S.; SACRAMENTO, L.V.S.; CELOTO, F.J. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. *Acta Scientiarum Agronomy*, v.30, p.1-5, 2008.
- EMMETT, R.W.; WICKS, T.J.; MAGAREY, P.A. Downy mildew of grapes. In: KUMAR, J.; CHAUBE, H.S.; SINH, U.S.; MUKHOPADHYAY, A.N. (eds.) *Diseases of fruit crops- Plant disease of international importance*. Englewood Cliffs: Prentice Hall, v. 3, p. 90-128, 1992.
- HANADA, R.E.; GASPARATTO, L.; PEREIRA, J. C. R. Eficiência de desinfectantes na erradicação de conídios de *Mycosphaerella fijiensis* aderidos à superfície de bananas. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.29, n.1, p.94-96, 2004.
- LAFON, R.; CLERJEAU, M. Downy mildew. In: PEARSON, H.M.; GOHEEN, C. (eds.) *Compedium of grape diseases*. St. Paul: APS Press, p.11-13, 1988.
- MOTOYAMA, M. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; TESSMANN, D. J.; STANGARLIN, J. R.; FIORI, A. C. G. Atividade antifúngica e indução de deoxiantocianidinas em sorgo por extratos cítricos. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v.28, n.1, p.103, 2002.
- NAZURAWA, E. S. Atividade antifúngica de extratos de plantas do Cerrado sobre *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. (Penz. & Sacc.) e *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curtis) da acerola (*Malpighia emarginata* D. C.) Ilha Solteira: UNESP/FEIS, 2005. 46p. (Trabalho de conclusão de Curso de Graduação em Agronomia).
- NAZURAWA, E. S.; PAPA, M. F. S.; SACRAMENTO, L. V. S. Atividade antifúngica de extratos de plantas de cerrado a *Corynespora cassiicola* da acerola. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v. 31, p.92-92, 2005.
- SCOTT, A.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, Raleigh, v.30, n.3, p.507-512, 1974.
- SILVA, M.F. Atividade antifúngica de extratos de *Momordica charantia* L. e *Lafoensia pacari* St. Hil. Sobre *Colletotrichum musae* (Berk & Curtis) Arx. Ilha Solteira: UNESP/FEIS, 2008. 74p. (Dissertação de Mestrado).
- SOUZA, L. K.; OLIVEIRA, C. M A.; FERRI, P. H.; SANTOS, S. C.; OLIVEIRA JÚNIOR, J. G.; MIRANDA, A. T. B.; LIÃO, L. M; SILVA, M. R. R. Antifungal properties of brazilian cerrado plants. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v. 33, n. 3, p.247-249, 2002.