

14431 - Efeitos de Extratos Vegetais Sobre a Germinação e Esporulação de *Fusarium gutiforme*

*Effects of Plant Extracts about Germination and Sporulation of *Fusarium gutiforme**

ARAÚJO, Andrezza Klyvia Oliveira de¹; NASCIMENTO, Luciana Cordeiro do²; SILVA, Hilderlande³; PINTO, Kedma⁴; ARAÚJO, Ariosto Céleo de⁵.

1 UFPB, andrezza_klyvia@hotmail.com; 2 UFPB, luciana.cordeiro@cca.ufpb.br; 3 UFPB, hildinhasilva_2009@hotmail.com; 4 UFPB, kedma_maria@hotmail.com; 5 UFPB, ariosto.agronomia@gmail.com

Resumo: A fusariose do abacaxizeiro, causada pelo fungo *Fusarium gutiforme* é a doença de maior importância econômica que acomete diretamente a produção e comercialização do abacaxi e seu controle é realizado basicamente através de fungicidas sintéticos. Assim, este trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência de extratos vegetais e indutor de resistência no controle da germinação de esporos de *F. gutiforme*. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Fitopatologia/UFPB/CCA/Campus II. Para avaliar a esporulação e germinação de esporos foi preparada uma suspensão a partir de colônias puras de *F. gutiforme*, através da adição de 20mL de ADE na cada placa de Petri e raspagem das colônias fúngicas, com posterior filtragem e contagem dos esporos para obtenção de uma concentração de 10⁷ conídios/mL. A suspensão foi distribuída em tubos de ensaio (2mL) sendo adicionados 200µL, 400 µL e 600µL do extrato vegetal de laranja a cada tubo. A testemunha constituiu-se apenas da suspensão de esporos. As avaliações foram realizadas as 24 e 48 horas pela contagem de esporos totais e germinados em hemacitômetro.

Palavras-chave: Esporulação, Germinação, controle alternativo

Abstract: The fusariose the pineapple, caused by the fungus *Fusarium gutiforme* is the most economically important disease that affects directly the production and marketing of pineapples and its control is accomplished primarily through synthetic fungicides. This study aimed to evaluate the efficiency of plant extracts and resistance inducer control spore germination of *F. gutiforme*. The experiments were performed at the Laboratory of Plant Pathology / UFPB / CCA / Campus II. To assess the sporulation and germination of spores was prepared a suspension of colonies from pure *F. gutiforme* by adding 20mL of ADE in each petri dish and scraping the fungal colonies with subsequent filtering and counting the spores to obtain a concentration of 10⁷ conidia / ml. The suspension was distributed in test tubes (2 ml) was added 200µL, 600µL and 400 µL of plant extract from orange to each tube. The witness consisted only of spore suspension. The evaluations were performed 24 and 48 hours by counting spores germinated in total and hemacytometer.

Keywords: Sporulation, germination, alternative control

Introdução

Dentre os principais problemas fitossanitários, a fusariose, causada pelo fungo *Fusarium gutiforme* Nirenberg & O'Donnell, causa maior impacto na cultura do abacaxizeiro, podendo causar perdas de até 100% da produção (MATOS et al., 2009). Infecta mudas, plantas em desenvolvimento vegetativo e frutos, causa podridão dos tecidos afetados, com exsudação de substâncias gomosas a partir da região atacada. O patógeno penetra via aberturas naturais e/ou ferimentos na

superfície da planta; nos frutos a infecção se dá via flores abertas. (MATOS et al., 2005).

O uso de produtos químicos para tratamentos da fusariose tem sido considerado como a única medida eficiente e economicamente viável sendo também objeto de preocupação, visto que, o uso exagerado e indiscriminado oferece grandes riscos tanto a saúde humana como ao meio ambiente, apresentando altas taxas residuais na fruta, seja pelo descaso com as dosagens ou o período de carência, seja pelo uso de princípios ativos não registrados para a cultura (ROZAWALKA, 2008; SOARES et al., 2008).

Na busca de novos métodos de controle de doenças, os extratos de plantas com propriedades terapêuticas surgem como opção (BRASIL, 2009). O uso de extratos vegetais e óleos essenciais, por exemplo, têm sido fonte de inúmeras pesquisas que validam sua eficácia (SOUZA et al., 2007). Trabalhos desenvolvidos com extrato bruto ou óleo essencial de plantas medicinais e aromáticas obtidos a partir da flora nativa têm indicado o potencial de controle de fitopatógenos, tanto pela ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas, indicando a presença de compostos com características de elicitores (STANGARLIN et al., 1999; SCHWAN-ESTRADA et al., 2000; SALGADO, 2003; CUNICO et al., 2004; BASTOS e ALBUQUERQUE, 2004; BONALDO et al., 2004).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência de produtos naturais para inibir a germinação e esporulação de *F. gutiforme*

Metodologia

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Fitopatologia do Centro de Ciências Agrárias, Campus II - Universidade Federal da Paraíba. O isolado de *F. gutiforme* foi obtido a partir de frutos com sintomas típicos da doença coletados em estabelecimentos comerciais no município de Areia-PB. O fungo foi cultivado em meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) para obtenção de colônias puras.

Foram utilizados tratamentos com extratos vegetais comerciais de laranja (*Citrus sinensis*) e neem (*Azadirachta indica* A. Juss), fosfito de potássio e o produto comercial, à base de pó de rocha (Rocsil®) além do fungicida sintético oxicloreto de cobre.

Uma suspensão de esporos foi obtida a partir de colônias puras com oito dias de desenvolvimento em BDA. Através da adição de 20 mL de ADE a cada placa de Petri e com o auxílio de uma escova de cerdas macias, se realizou a raspagem das colônias de *F. gutiforme*, conforme metodologia descrita e realizada por Machado et al. (1999). O material foi filtrado através de duas camadas de gaze esterilizada e transferido para tubos de ensaio também esterilizados, sendo armazenado à temperatura ambiente (25 ± 2°C).

A concentração dos esporos foi determinada pela contagem dos mesmos em hemacitômetro, sendo o resultado final expresso em $1,00 \times 10^7$ conídios/mL (BORGES et

al., 2001). A suspensão foi distribuída em tubos de ensaio, colocando-se 2mL da mesma em cada um destes recipientes. Em seguida, foram adicionados 200µL, 400 µL e 600µL do extrato vegetal de laranja a cada tubo, de maneira a se obter as três concentrações a serem testadas, (10%, 20% e 30%). Como testemunha, foi utilizado apenas 2mL da suspensão de esporos. Os tubos com os esporos em imersão nos diferentes tratamentos, foram mantidos à temperatura ambiente. Decorrido os tempos de incubação de 24 e 48 horas, foi retirada de cada tubo uma alíquota (50µl) da suspensão, colocada em hemacitômetro e observada sob microscópio óptico para contagem dos esporos germinados, que tem a capacidade de se desenvolver diretamente em um novo indivíduo, e não germinados.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento. Os resultados, foram analisados por Modelos Lineares Generalizados, com comparação de médias pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade, totalizando quatro tratamentos (T1- Testemunha, T2- óleo de laranja a 10%, T3- óleo de laranja a 20% e T4- óleo de laranja a 30%). O processamento estatístico dos dados foi realizado utilizando-se o programa SAS (1992).

Resultados e discussões

A esporulação e germinação de esporos avaliados após 24 horas não foram influenciadas pelos tratamentos, enquanto às 48 horas, todos os tratamentos diferiram da testemunha, reduzindo em até 35% o índice de germinação para ambas as variáveis (Tabela 1).

A inibição total ou parcial verificada no crescimento micelial, no experimento anterior, bem como, na germinação de esporos de *F. gutiforme*, pelo óleo de laranja, indicam a existência de compostos com ação fungitóxica que possibilitarão o emprego destes no controle alternativo da fusariose.

Foi observada redução da germinação em relação a testemunha para todas as concentrações de óleo de laranja avaliadas.

Resultados distintos de atividade antimicrobiana de um determinado óleo estão relacionados com inúmeros fatores. Cada organismo patogênico, bem como o óleo a ser analisado, tem suas particularidades e o conhecimento delas é um fator importante na validação do efeito antimicrobiano dos mesmos (NASCIMENTO et al. 2006).

Produtos do metabolismo primário e secundário, uma vasta gama de compostos orgânicos naturais de origem vegetal são biologicamente ativos, isto é, têm ação fungicida, inseticida, citotóxica, antiviral, tranquilizante, analgésica, dentre outras (PLETSCH, 1998). A exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes no extrato bruto ou óleo essencial em plantas medicinais pode constituir-se em mais uma forma potencial de controle alternativo de doenças de plantas cultivadas, ao lado da indução de resistência (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000).

TABELA 1. Esporulação e germinação de esporos de *Fusarium gutiforme* em meio de cultura BDA, submetidos a aplicação de tratamentos alternativos

	Esp. 24h (x10⁶)	Esp. 48h (x10⁶)	Germ. esp. 24h (x10⁶)	Germ. Esp. 48h (x10⁶)
Testemunha	3,69 a ¹	6,37 a	1,02 a	2,91 a
Óleo de laranja (10%)	3,19 a	5,12 b	0,86 a	2,04 b
Óleo de laranja (20%)	2,65 a	4,44 bc	0,72 a	1,96 b
Óleo de laranja (30%)	1,95 a	4,14 c	0,69 a	1,87 b
CV (%)	9,68	8,94	47,05	9,9

¹ Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Médias de 5 placas.

Conclusões

O óleo de laranja a 20 e 30% mostraram-se eficientes na inibição da esporulação e germinação de *F. gutiforme* após 48 horas de incubação.

Referências bibliográficas:

BASTOS, C.N.; ALBUQUERQUE, P.S.B. Efeito do óleo de Piper aduncum no controle em pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.5, p.555-557, 2004.

BORGES, M.F.; RESENDE, M.L.V.; PINHO, R.G. V. Inoculação artificial de colmos de milho em diferentes idades e concentrações de inóculo e sua relação com a expressão da resistência a *Fusarium moniliforme*. **Fitopatol. Bras.** 26(4), dezembro 2001 p. 715-20.

BONALDO, S.M. Fungitoxicity, phytoalexins elicitor activity and protection of cucumber against *Colletotrichum lagenarium*, by *Eucalyptus citriodora* aqueous extract. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.2, p.128-134, 2004.

BRASIL. Ministério da indústria, do comércio e do turismo. **Secretaria do comércio exterior**. Abacaxi (*Ananas comosus*) frescos ou secos. Brasília: SECEX, 2009. CUNICO, M. M.; CARVALHO, J. L. S.; SILVA, V. C.; MONTRUCCHIO, D. P.;

KERBER, V. A.; GRIGOLETTI JUNIOR, A.; AUER, C. G.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Avaliação antifúngica de extratos obtidos de *Ottonia martiana* Miq. (Piperaceae) sobre três patógenos da erva-mate (*Ilex-paraguariensis* ST. HIL.). **Arquivos do Instituto Biológico**. "In press", 2004b

MACHADO, J.C.; COUTINHO, W.M.; MAGALHÃES, F.H.L.; KIMURA, M.K. Fungitoxicidade in vitro de tolyfluanid na germinação de conídios e crescimento micelial de fungos associados à sementes de algodão. In: CONGRESSO

BRASILEIRO DE SEMENTES. Foz do Iguaçu. Resumos. Curitiba, ABRATES, 1999. p. 113.

MATOS, A. P.; CABRAL, J. R. S. Manejo integrado da fusariose do abacaxizeiro. Abacaxi em foco. **Embrapa**, 32, p. 1, 2005.

MATOS, A. P.; SANCHES, N. F.; TEIXEIRA, F. A.; SIMÃO, A. H.; GOMES, D. C.; JÚNIOR, J. E. Monitoramento da Fusariose em plantios de abacaxi 'Pérola' conduzidos em sistema de produção integrada no Estado do Tocantins. Cruz das Almas: **Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical**, 2009. 37 p. (Documentos/Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 184).

NASCIMENTO, A. R. P. et al. Reação de clones de videira a *Xanthomonas campestris* pv *viticola*, baseada nos componentes epidemiológicos do cancro bacteriano. *Ciência Rural*, 36, p. 1-7, 2006.

PLETSCH, M. Compostos naturais biologicamente ativos. A aplicação da biotecnologia à produção de compostos naturais biologicamente ativos. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, ano 1, n.4, p.12-15, 1998.

ROZWALKA, L. C.; LIMA, M. L. R. Z. C.; MIO, L. L. M.; NAKASHIMA, T; **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 301-307, 2008.

SALGADO, A. P. S. P.; CARDOSO, M. DAS G.; SOUZA, P. E.; SOUZA, J. A.; ABREU, C. M. P. E PINTO, J. E. B. P. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana*. **Ciênc. agrotec.**, Lavras. V.27, n.2, p.249-254, mar./abr., 2003.

SOARES, A. R.; LOURENÇO, S. A.; AMORIM, L. **Tropical. Plant pathology** v. 33, n. 4, p.273-280, Brasília (2008).

SOUZA, L. F. da S.; CABRAL, J. R. S.; REINHARDT, D. H.; SOUZA, J. da S. Abacaxicultura: O abacaxizeiro. 2002. Disponível em: <http://www.ceninsa.org.br:8080/portalCeninsa/novo/abacaxi/ab_oabacaxizeiro.jsp>. Acesso em: 28jan.2008.

STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S.; NOZAKI, M.H. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia: Ciência & Desenvolvimento**. n-11, p. 16-21, 1999.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Revista Floresta**, Curitiba, v. 30, n. 1/2, p. 129-137, 2000.