



**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DE EXTRATOS VEGETAIS NO DESENVOLVIMENTO
MICELIAL DE *Phytophthora* sp.**

**EVALUATION *IN VITRO* EXTRACTS PLANT DEVELOPMENT MYCELIAL
Phytophthora sp.**

DONDE¹, Abilene Rodrigues; RODRIGUES², Cleverson; BAMBOLIM¹, Amauri; DAVID³,
Grace Queiroz; PERES³, Walmor Moya;

¹Graduandos do Curso de Engenharia Florestal – UNEMAT- Universidade do Estado de Mato Grosso. Alta Floresta, e-mail: biby_advir@hotmail.com

²Mestrando em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos. UNEMAT - Alta Floresta.

³Docentes da Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias UNEMAT - Alta Floresta.

Resumo - Na busca por tratamentos alternativos o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito *in vitro* de extratos vegetais sobre o crescimento micelial do fungo *Phytophthora* sp. Em esquema fatorial (4x4) foram utilizados quatro extratos vegetais (alho, gengibre, pimenta e licor pirolenhoso) e quatro dosagens (0; 0,5; 1,0 e 2,0 mL/placa), sendo essas acrescidas de 10mL de meio ágar V8 (*pour plate*), após a solidificação do meio, foi depositado ao centro um disco de 10mm do micélio, as placas foram incubadas em BOD a 25°C e fotoperíodo de 12 horas. As avaliações consistiram em medições ortogonais diárias do crescimento micelial até um dos tratamentos colonizar todo meio. Foram avaliados o crescimento médio micelial, PIC e IVC. Nas doses avaliadas todos os extratos apresentam crescimento micelial inferior ao da dose 0 sendo a dose de 2mL superior as demais, dentre os extratos os melhores resultados foram o extrato pirolenhoso e gengibre.

Palavras – chave - Controle alternativo; Crescimento micelial; *Damping-off*.

Abstract: - In the search for alternative treatments the present work was to evaluate the *in vitro* effect of plant extracts on mycelial growth of the fungus *Phytophthora* sp. Factorial (4x4) were used four plant extracts (garlic, ginger, pepper and pyrolignous) and four doses (0, 0.5, 1.0 and 2.0 mL / plate), and these plus 10mL of culture medium V8 agar (*pour plate*) after solidification of the medium, the center was placed a disk of 10mm from the mycelium, the plates were incubated in a chamber at 25 ° C and a photoperiod of 12 hours. Evaluations consisted of measurements orthogonal daily mycelial growth to one of the treatments colonize all means. We evaluated the growth medium mycelial PIC and IVC. At the doses evaluated all extracts exhibit mycelial growth below the 0 dose and the dose of 2 ml top the other, among extracts the best results were pirolenhos extract and ginger.

Keywords - Alternative control; Mycelial growth; *Damping-off*.

INTRODUÇÃO

O impacto provocado pela agricultura no meio ambiente e a contaminação da cadeia alimentar com agrotóxicos, tem preocupado a sociedade e tem alterado o cenário agrícola, resultando no aparecimento de segmentos de mercado ávido por produtos diferenciados, produzidos sem uso de agrotóxicos e criando alternativas para o controle de pragas e doenças (BETTIOL, 2003).

Como consequência do avanço da tecnologia da fitopatologia, progressos consideráveis na aplicação e desenvolvimento de métodos alternativos aos fungicidas químicos estão sendo testados. Visando minimizar os efeitos negativos de substâncias químicas sintetizadas, tem se buscado novas medidas de proteção



de plantas contra doenças que preconiza o uso do controle alternativo de fitopatógenos (BETTIOL, 1999).

O controle utilizando produtos naturais tem apresentado resultados satisfatórios, pois além da fácil aquisição, preparo e utilização eles não agredem o ambiente e possuem baixo custo de produção, favorecendo principalmente o pequeno agricultor (MENDES et al., 2007).

Um dos fungos que mais tem desafiado pesquisadores na busca por seu controle é as espécies do gênero *Phytophthora*. Esse patógeno infecta plantas através das raízes, provocando danos conhecidos como *damping-off*, podridão do colo e de raízes, tornando-se um sério problema para a agricultura e a viveiricultura, pois afeta de maneira direta o estabelecimento da muda no viveiro e no campo.

Nesse contexto, o presente estudo visa avaliar *in vitro* a eficácia de diferentes extratos vegetais sobre o desenvolvimento micelial de *Phytophthora* sp.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, *Campus* Universitário de Alta Floresta.

Para a realização deste estudo utilizou-se o fungo *Phytophthora* sp., armazenado na micoteca do laboratório. Os extratos utilizados foram a base de alho (*Allium sativum* L.), pimenta (*Capsicum frutescens* L.), gengibre (*Zingiber officinale*) e licor pirolenhoso de teca (*Tectona grandis*), este oriundo do processo de carbonização da madeira, os demais extratos vegetais foram obtidos seguindo a metodologia, onde 100g do vegetal fresco foram adicionados a 400mL de água destilada e triturado em liquidificador por um minuto, sendo posteriormente submetidos à filtragem em peneiras de gaze.

Adotou-se o esquema fatorial 4x4 sendo 4 extratos (alho, pimenta, gengibre e licor pirolenhoso) e 4 doses (0; 0,5; 1,0 e 2,0 mL), divididos em cinco repetições. Em placas de Petri de 8cm seguiu-se a metodologia *pour plate*, na qual foi depositada a dose estabelecida e em seguida adicionado 10mL de meio ágar V8 fundente, havendo a homogeneização do extrato com o meio, após solidificação deste, foram transferidos para o centro das placas discos de 10mm de micélio do *Phytophthora* sp., após, essas foram vedadas com plástico filme e incubadas em câmara BOD a 25±2°C, com fotoperíodo de 12 horas.

Para avaliação do crescimento médio micelial foram realizadas medições do crescimento radial da colônia em dois eixos ortogonais com auxílio de régua milimetrada, descartando-se o disco inoculado. Com os dados dos tratamentos além de verificar a média de crescimento micelial, procedeu-se avaliações como a porcentagem de inibição do crescimento (PIC) e o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) dados pelas fórmulas de Oliveira (1991) e Abbott (1925).

$$IVCM = \frac{\sum (D - D_a)}{N} \quad PIC = \left[\frac{(\phi \text{ da testemunha} - \phi \text{ do tratamento})}{\phi \text{ da testemunha}} \right] \times 100$$

Onde;

D = diâmetro médio atual da colônia;

Da = diâmetro médio da colônia do dia anterior;



N = número de dias após a inoculação.

Os dados obtidos no experimento foram submetidos à análise de variâncias e as médias comparadas pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade através do programa SISVAR® (FERREIRA, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verifica-se que houve diferenças significativas no controle do crescimento micelial do fungo do *Phytophthora* sp., dentro e entre os tratamentos, havendo assim interação entre as variáveis.

Nota-se que a para os extratos de alho e pimenta a medida em se elevam as doses há uma gradativa redução no crescimento médio micelial do fungo, sendo a dose de 2mL a mais expressiva (0,92 e 0,91cm), respectivamente (tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos por Berto (2011), em que o extrato aquoso de alho na dose de 2,0mL inibiu consideravelmente o crescimento micelial do fungo *Colletotrichum* sp. quando comparado a testemunha. Leandro (2012), também relata a atividade fungitóxica de pimenta sobre o fungo *Pestalotia* sp. na qual estabeleceu um nível de crescimento micelial inferior ao da testemunha.

Para o licor pirolenhoso de teca e extrato de gengibre verifica-se que na dose de 0,5mL as médias foram menores, comparadas a dose 0 e 1mL, porém não há diferença da dose seguinte (tabela 1). Tal fato pode ser esclarecido pela ação desses produtos que em baixas concentrações podem estimular o desenvolvimento dos organismos, e a partir de outra dosagem podem se tornar tóxicos a nível celular, gerando danos diretos ao pleno desenvolvimento do indivíduo.

Silva et al. (2013), em estudo *in vitro* utilizando o extrato pirolenhoso de timburi na dose 1,0 ml verificaram um elevada eficiência de controle no desenvolvimento do fungo *Rhizoctonia solani*, restringindo o total desenvolvimento do micélio. Conforme demonstrado por Rodrigues et al. (2006), o extrato aquoso gengibre apresenta um efeito antimicrobiano *in vitro* bem expressivo limitando o crescimento do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* quando avaliados em doses de 2,5 mL.

Entretanto, observou-se que em todos os tratamentos que houve uma redução do crescimento médio micelial à medida que se elevam as doses, diferindo todas da dose inicial, sendo a dose de 2mL a mais fungitóxica (Tabela 01).

Tabela 01. Média do crescimento micelial (cm) de *Phytophthora* sp. sob influência de extratos vegetais em diferentes doses. Alta Floresta – MT, 2013.

Tratamento	Doses (mL/placa)			
	0	0,5	1	2
Alho	2,73 a C	1,78 c B	1,63 b B	0,92 b A
Pimenta	2,77 a B	1,07 b A	0,93 a A	0,91 b A
Ext. Pirolenhoso	2,74 a C	1,57 bc B	1,84 b B	0,31 a A
Gengibre	2,69 a B	0,46 a A	0,47 a A	0,45 ab A
Cv (%)				22,99

Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha indicam que não houve diferença pelo teste de Tukey à 5%.

Quanto a variável índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), os valores encontrados corroboram com as taxas de crescimento micelial, evidenciando que os extratos testados apresentam fungitoxidade nas diferentes dosagens, fato que inibe o pleno desenvolvimento do patógeno, inferindo na velocidade de colonização do meio (figura 1). Observa-se um índice de velocidade de crescimento médio de em torno de 0,74 para dose 0 (zero) enquanto a dose maior (2mL) apresenta uma média de 0,19, ou seja uma redução significativa na velocidade de miceliação do patógeno quando sob a ação desses extratos.

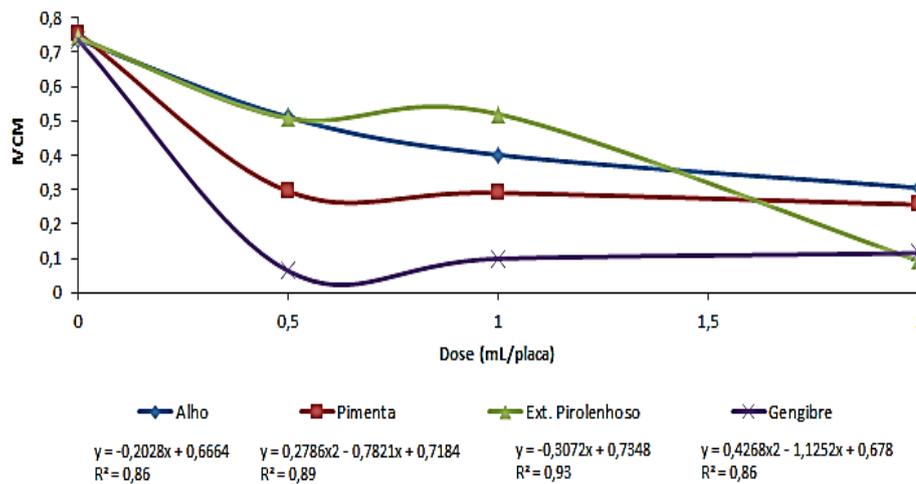


Figura 01. Índice de velocidade do crescimento micelial (IVCM) de *Phytophthora* sp. sob ação de doses de diferentes extratos vegetais. Alta Floresta, 2013.

Para a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) do fungo *Phytophthora* sp. verifica-se que em todos os extratos à medida que as doses foram aumentadas houve um aumento na taxa de inibição do crescimento micelial (fig. 2).

Assim nota-se que o extrato aquoso de alho apresentou 40,40% de PIC já a partir da dose 0,5mL, quando comparado a dose 0 (testemunha) houve uma redução expressiva do crescimento micelial, evidenciando a fungitoxidade do extrato em baixas dosagens, chegando a um pico de inibição de 65,44% na dose maior. Outros autores como Ribeiro e Bedendo, (1999) e Bianchi et al., (1997) realizaram trabalhos com o gênero *Colletotrichum* sp. e observaram taxas de inibição na ordem de 42 a 67%, com uso 1mL de extrato aquoso de alho.

Quanto ao extrato de pimenta observa-se uma elevada taxa de inibição também em baixas dosagens (61,37%) com um acréscimo de inibição de 6,01% quando na dose de 2mL. O estudo de Silva et al. (2012), utilizando o extrato de pimenta malagueta no controle de *Fusarium oxysporum* obteve 52,80% de inibição de crescimento micelial, o experimento de Leandro (2012) demonstrou efeito fungistático da pimenta inibindo em 16,21% o crescimento micelial do fungo *Pestalotia* sp.

Para o extrato pirolenhoso de teca verificou-se uma elevada ação sobre o desenvolvimento do fungo, atingindo um pico máximo de 91,26% de PIC quando na dose de 2mL. Tal atividade fungitóxica foi relatada por Silva et al. (2013), na qual obteve 100% de inibição crescimento do fungo *Rhizoctonia solani*, utilizando o extrato pirolenhoso de timburi na dose 1,0mL. Furtado et al. (2002) *apud* Alves

(2006) constataram, *in vitro*, que o extrato pirolenhoso, na dose de 1mL inibiu totalmente o crescimento micelial de *Botrytis cinerea*, *Cylindrocladium clavatum* e *Rhizoctonia solani*, isolados de mudas de eucalipto.

O extrato de gengibre possibilitou uma inibição constante em torno de 73% desde a dose 0,5 mL, evidenciando o rápido efeito do extrato, sendo superior aos demais extratos na mesma dosagem. O efeito antimicrobiano *in vitro* do gengibre já foi verificado por outros autores, conforme demonstrado por Rodrigues et al. (2006), onde o crescimento micelial do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* quando avaliados em doses de 2,5 ml de extrato aquoso de gengibre foi inibido 92,5%.

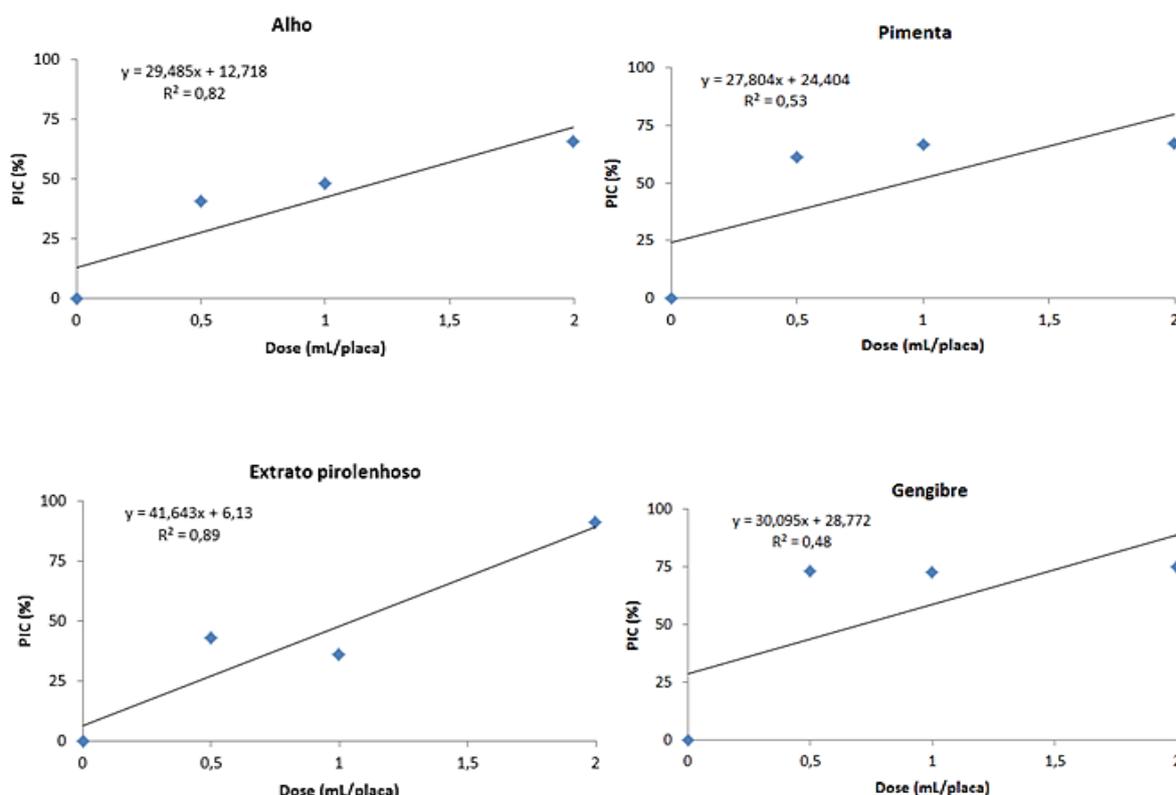


Figura 02. Porcentagem de inibição de crescimento micelial (PIC) do fungo *Phytophthora* sp. sob diferentes doses e extratos. Alta Floresta, 2013.

CONCLUSÕES

Dentre os extratos avaliados as doses 1,0mL e 2,0mL proporcionaram maior controle micelial do fungo *Phytophthora* sp.

O extrato pirolenhoso de teca e o extrato aquoso de gengibre apresentaram melhores resultados na inibição do crescimento micelial do fungo *Phytophthora* sp. apresentando grande potencial de exploração na área fitossanitária.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v.18, p.265-267, 1925.
- ALVES, M. **Impactos da utilização de fino de carvão e extrato pirolenhoso na agricultura**. 2006. 52 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de



I SEMINÁRIO DE BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS AMAZÔNICOS

Alta Floresta-MT, 23 e 24 de setembro de 2013

Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, São Paulo. 2006.

BETIOL, W.; **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1999. 388p.

BETIOL, W.; **Controle de doenças de plantas com agentes de controle biológicos e outras tecnologia alternativas**. In: CAMPANHOLA, C.; BELTIOL, W. (Eds). Métodos alternativos de controle fitossanitário. Jaguariúna: Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento, 2003 p.191-215.

BIANCHI, A.; ZAMBONELLI, A.; ZECHINI D'AULERIO, A.; BELLESIA, F. **Ultrastructural studies of the effects of *Allium sativum* on phytopathogenic fungi in vitro**. *Plant Disease*, v.81, n.11, p.1241-1246, 1997.

CHALFOUN, S.M.; CARVALHO, V.D. Efeito do extrato de óleo industrial de alho sobre o desenvolvimento de fungos. *Fitopatologia Brasileira*, v.12, n.3, p.234-235, 1987.

DUARTE, M. L. R.; **Doenças de plantas no trópico úmido brasileiro**. Doenças de outras fruteiras tropicais. DUARTE, M.; L.; R.; ALBUQUERQUE, F.; C.; PROTONIERI, L.; S.

FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. *Revista Symposium*, Lavras, v. 6, p. 36-41, 2008.

LEANDRO, L. L.; **Controle "in vitro" de *Pestalotia* sp. com extratos vegetais**. 2012. 8 p. Universidade do Estado do Mato Grosso, Alta Floresta - MT, 2012.

LUZ, E. D. M. N.; MATSUOKA, K.; SANTOS, Á. F.; BEZERRA, J. L. **Doenças causadas por *Phitophthora* no Brasil**. *Phitophthora: fungo, protista ou shromista?* LUZ, E. D. M. N. MATSUOKA, K. Campinas, São Paulo: LIVRARIA E EDITORA RURAL, LTDA, 2001 p.1.

OLIVEIRA, J. A. Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativa* L.) e pimentão (*Capsicum annanum* L.). 1991. 111fl. **Dissertação** (Mestrado em Fitossanidade) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG: UFLA, 1991.

RODRIGUES, E.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; FIORI-TUTIDA, A. C. G.; STANGARLIN, J. R.; Cruz, M. E. S.; Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de alface em sistema de cultivo orgânico contra *Sclerotinia sclerotiorum* pelo extrato de gengibre. *Summa Phytopathologica*, v.33, n.2, p.124-128, Jun/2006.

SILVA, M. S.; DAVID, G. Q.; PERES, W. M.; RODRIGUES, C. Controle alternativo "in vitro" de *Rhizoctonia solani* com extratos vegetais em alta floresta - MT In: Congresso de Iniciação Científica, 5ª. (JC), 2013, Cáceres/MT. **Anais** Vol. 8 (2013), Brasil, 22-24 abril 2013.

RIBEIRO, L.F.; BEDENDO, I.P. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* – agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. *Scientia Agrícola*, Piracicaba, v.56, n.4, p.1267-1271, 1999.

SILVA, J. L.; TEIXEIRA, R. N. V.; SANTOS, D. I. P.; PESSOA, J. O.; Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o crescimento in vitro de fitopatógenos, *Revista verde de Agroecologia e desenvolvimento sustentável grupo verde de*



I SEMINÁRIO DE BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS AMAZÔNICOS

Alta Floresta-MT, 23 e 24 de setembro de 2013

agricultura alternativa (gvaa) issn 1981-8203, v.7, n.1, p. 80 – 86 janeiro/março de 2012.

SOUZA, A. E. F.; ARAÚJO, E.; NASCIMENTO, L. C. Atividade antifúngica de extratos de alho e capim-santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolado de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, n.6, p.465-471, 2007.