



FUNGITOXIDADE DE EXTRATOS AQUOSOS EM *Pestalotiopsis guepinii*

FUNGITOXIC IN AQUEOUS EXTRACTS *Pestalotiopsis guepinii*

RODRIGUES¹, Jessica Marciella de Almeida; OLIVEIRA¹, Reginaldo;
RODRIGUES¹, Luan Lucas de Almeida; SANTOS JUNIOR¹, Antonio Calado;
SILVA², Bruna Mezzalira da; RODRIGUES³, Cleverson; DAVID⁴, Grace Queiroz;
PERES⁴, Walmor Moya.

¹Bolsistas PROBIC/ Unemat e Acadêmicos do curso de Agronomia – UNEMAT, *Campus Alta Floresta* – MT. e-mail: jessicamarciella@hotmail.com

³Mestrando do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos – UNEMAT;

²Graduanda em Ciências Biológicas pela UNEMAT de Alta Floresta – MT.

⁴Professores da faculdade de Ciências Biológicas e agrárias – UNEMAT, *Campus Alta Floresta* – MT

Resumo - A utilização de compostos naturais oriundos de extratos vegetais tem se mostrado uma forma alternativa no controle de inúmeros fitopatógenos. Objetivou-se verificar a ação fungistática *in vitro* de extratos aquosos no desenvolvimento micelial do fungo *Pestalotiopsis guepinii*. O experimento foi realizado no Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da UNEMAT, em esquema fatorial 2x3, sendo duas condições de esterilização (com e sem autoclavagem) e três extratos aquosos (*Ricinus communis*, *Azadirachta indica* e *Bixa orellana*), mais a testemunha (água), após produção dos extratos seguiu-se a metodologia *pour plate*, na qual 1,5mL de cada extrato foi adicionado em placa de Petri seguido de 10mL de BDA fundente, após solidificação depositou-se um disco do micélio. As avaliações foram diárias por meio de régua milimétrica. Avaliou-se o crescimento micelial, IVCM e PIC. O extrato de Nim em ambas condições mostrou-se superior para as variáveis analisadas, contudo todos extratos nas duas condições foram superiores a testemunha.

Palavras chaves - Mamona; Urucum; Nim; Pestalosiase.

Abstract – The use of natural compounds derived from plant extracts have been shown an alternative way to control many plant pathogens. Aimed to evaluate the *in vitro* fungistatic action of aqueous extracts on mycelial growth of the fungus *Pestalotiopsis guepinii*. The experiment was conducted at the Laboratory of Microbiology and Plant Pathology of UNEMAT, in a 2x3 factorial, two sterilization conditions (with and without autoclaving) and three aqueous (*Ricinus communis*, *Azadirachta indica* and *Bixa orellana*), plus the control (water) after production of extracts followed by *pour plate* methodology in which 1.5 mL of each extract was added to the Petri dish followed by 10mL PDA flux after solidification was deposited mycelial disc. The evaluations were daily by millimeter ruler. Evaluated the mycelial growth, IVCM and PIC. The extract of Neem in both conditions was higher for the variables analyzed, however all statements in the two conditions were compared to the controls.

Key words - Castor; Annatto; Nim; Pestalosiase

INTRODUÇÃO

A cultura do cajueiro é amplamente difundida pelo Brasil, principalmente nas regiões do semiárido, no entanto tal frutífera está presente em muitos dos quintais agroflorestais da Amazônia, porém as condições climáticas propicia o ataque inúmeros fitopatógenos como o *Pestalotiopsis guepinii* (mancha de pestalotia), os sintomas induzidos pelo patógeno são caracterizados por manchas necróticas



pequenas, aproximadamente circulares quando distribuídas no limbo foliar, e maiores, quando localizadas no ápice ou borda da folha conforme descrito por Menezes et al. (1975).

O controle das doenças na agricultura tem se intensificado, sendo realizado basicamente através do emprego de produtos sintéticos (VENTUROSO et al., 2010). Estes produtos em curto prazo auxiliam de maneira eficaz o agricultor no alcance de altas produtividades. No entanto, em longo prazo, além do surgimento de isolados dos fitopatógenos resistentes às substâncias químicas utilizadas, os resultados para a sociedade como um todo e para o meio ambiente podem se tornarem negativos devido à poluição causada pelos resíduos (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000).

Na busca de substitutos para estes produtos muitos autores encontram nas plantas uma alternativa de interesse econômico e ecológico bastante promissora (SOUZA et al., 2007). A obtenção dos metabólitos secundários de plantas, bem como, a determinação da atividade biológica de suas moléculas, com respeito à atividade elicitora e/ou antimicrobiana, desencadeia inúmeros trabalhos de pesquisa visando o desenvolvimento de métodos alternativos de controle fitossanitário (CAMPANHOLA e BETTIOL, 2003).

Diante do exposto, o presente trabalho visa verificar o potencial *in vitro* de extratos aquosos de *Ricinus communis*, *Azadirachta indica* e *Bixa orellana* sobre o patógeno *Pestalotiopsis guepinii*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da UNEMAT, *Campus* de Alta Floresta, material vegetal com quadro sintomatológico de doença foliar foi coletado em cajueiros de quintais agroflorestais nas redondezas do município e encaminhados ao laboratório. Seguindo os processos metodológicos, o material foi incubado e avaliado sete dias após. Por meio de chaves de identificação e lâminas semipermanentes em microscópio óptico constatou-se a presença de conídios com 5 células com as centrais de coloração marrom e as extremidades hialinas, além da presença de apêndices, confirmando ser o patógeno *Pestalotiopsis guepinii*, agente causal da mancha de pestalotia em cajueiros, tal material foi mantido em meio BDA e armazenado na micoteca do laboratório.

Para a produção dos extratos aquosos utilizou-se folhas jovens de *Ricinus communis* (mamona), *Azadirachta indica* (Nim) e *Bixa orellana* (urucum), adotou-se a proporção de 200g de material fresco em 400mL de água destilada estéril, sendo triturada em liquidificador por 2 minutos, logo após filtrado em peneira de gaze. Parte desses extratos foram autoclavado a 121°C e 1atm de pressão e parte foram utilizados *in natura*.

O delineamento foi em esquema fatorial 3x2 sendo três extratos e duas condições (autoclavado e sem autoclavar) mais a testemunha. Na câmara de fluxo laminar foram adicionados 1,5mL de cada extrato (com e sem autoclavagem) por placa de Petri em 10mL de meio de cultura BDA fundente (*pour plate*) assim havendo a homogeneização do extrato. Após a solidificação do meio, foram repicados discos de micélio de 10mm e depositado ao centro de cada placa, em seguida foram incubadas em BOD a 25±2°C e fotoperíodo de 12 horas.

As avaliações foram diárias a partir das primeiras 48h de incubação, avaliou-se o desenvolvimento micelial através da média do crescimento radial das colônias, o



qual foi avaliado em dois eixos ortogonais com auxílio de régua milimetrada, até o momento em que um dos tratamentos colonizasse a borda da placa. As avaliações subsidiaram dados para verificar o crescimento micelial, o índice de velocidade de crescimento (IVCM) e a porcentagem de inibição do crescimento micelial dados pelas fórmulas de Oliveira (1991) e Abbott (1925).

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

Onde;

D = diâmetro médio atual da colônia;

Da = diâmetro médio da colônia do dia anterior;

N = número de dias após a inoculação.

Na análise estatística os dados foram submetidos ao teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade por meio do programa SISVAR® (FERREIRA, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de variância não houve interação entre os fatores, observando que os extratos utilizados exerceram efeito direto sobre o desenvolvimento do fungo, e que quando submetido ao processo de autoclavagem há uma redução da eficiência fungistática do mesmo.

De acordo com quadro de médias (tabela 01) observa-se que o extrato de nim apresentou maiores inibições do crescimento micelial (1,83cm) em relação a testemunha (3,30cm), cuja taxa de inibição de crescimento atingiu 44,39%, e um índice de velocidade de miceliação de 0,22, sendo dentre os extratos o mais eficiente.

Segundo Carneiro et al. (2003), muitos compostos ativos foram isolados da planta, dos quais se têm a salanina, azadiractina e nimbolina, dentre outros compostos que desempenham interferência direta na miceliação do patógeno como visto em *Sarcocladium*, *Fusarium*, *Phaeoisariopsis*, *Bipolaris*, *Puccinia* e *Aspergillus*.

Tabela 01. Fungitoxidade de extratos aquosos em *Pestalotiopsis guepinii*. Alta Floresta, MT. 2013.

Extrato	Crescimento Micelial		
	(cm)	IVCM	PIC (%)
Nim	1,83 a	0,22 a	44,39 a
Mamona	2,72 b	0,29 b	17,29 b
Urucum	2,62 b	0,26 ab	20,24 b
Testemunha	3,30 c	0,44 c	0,00 c
Extratos autoclavados	3,08 b	0,38 b	6,37 b
Extratos sem autoclavar	1,77 a	0,15 a	46,11 a
CV(%)	5,82	11,52	21,07

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

Segundo Ribeiro e Bedendo (1999), demonstraram que extratos aquosos de mamona (*Ricinus communis* L.), exibiram efeitos inibitórios sobre fungos quando testados *in vitro* causando redução da produção de conídios e inibindo o crescimento micelial, assim como afirma Rodrigues et al. (2010) o extrato aquoso de mamona reduz significativamente, (52,95%) o micélio de *Asperisporium caricae*,



pinta preta na cultura de mamoeiro, comparando aos resultados obtidos neste experimento de (17,29%) sob o *Pestalotiopsis guepinii* tendo o IVCM de (0,29) e a testemunha de (0,44). Uma vez que a mamona se destaca por possuir elevada taxa de proteína bruta e apresentar alta toxicidade sendo frequentemente usado nas lavouras como fertilizante, fungicida e biocontrolador de fitonematóides (SASSER, 1989).

Para o extrato de Urucum, Caceres et al. (1995) investigaram 46 plantas, entre elas *Bixa orellana*, quanto à atividade, contra cinco cepas de *Neisseria gonorrhoeae* através de extrato hidroalcolico a 50% utilizando a folha e a raiz, e constataram que somente a folha possui efeito inibidor, neste presente trabalho o efeito fungitoxico compreendeu valores de crescimento micelial de 2,62cm e PIC de 20,24%, tendo IVCM de (0,26) bem próximo do extrato de mamona.

Segundo Lorenzi e Matos (2002), o estudo fitoquímico revelou a existência, na folha do urucum, de um óleo volátil contendo mono e sesquiterpenos, entre os quais destaca-se ishwarano e vários flavonóides. Na semente ocorre um óleo essencial rico em all-E-geraniolgeraniol, monoterenos e sesquiterpenos oxigenados, além de carotenóides bixina e norbixina, responsáveis pela cor, e alfa e beta-caroteno em teores mais baixos, substâncias essas que podem exercer algum efeito sobre o desenvolvimento de microorganismos.

Determinados extratos de plantas não apresentam ação fungitóxica direta no crescimento micelial, mas podem possuir compostos com características elicitoras (ITAKO et al., 2009; SILVA et al., 2009). Esses compostos ativam os mecanismos de resistências bioquímicos em resposta ao tratamento com agentes bióticos ou abióticos (SCHWAN-ESTRADA et al., 2004).

Notou-se que não houve interação significativa entre os extratos e as condições, logo os extratos que não sofreram autoclavagem obteve melhores resultados com um crescimento médio micelial de 1,77cm, PIC de 46,11% e IVCM de (0,15), em relação aos extratos autoclavados 3,08cm e PIC de 6,37%, onde o índice de velocidade de miceliação foi de (0,38).

Segundo Stangarlin et al. (1999), é de suma importância a realização desses estudos, visando potencializar uso de extratos vegetais no controle de fitopatógenos, haja vista que várias propriedades são atribuídas aos compostos obtidos de plantas, mostrando grandes horizontes de pesquisas.

CONCLUSÕES

Todos os extratos, independentes de sua condição, tiveram efeitos fungitoxicos sobre o *Pestalotiopsis guepinii*, sendo que os extratos sem autoclavar obtiveram os maiores êxitos, destes o nim foi superior em ambas às condições.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de amparo à pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT) e a Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (CAPES) pelas bolsas concedidas aos autores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



- AHAMED, f. et al. Effect of plant extracts against *Bipolaris Oryzae* of rice under *in vitro* conditions. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Faisalabad, v. 5 n. 4 p. 442-445, 2002.
- CACERES, A. et al. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 1. Screening of 84 plants against enterobacteria. *J. Ethnopharm.*, Amsterdam, v. 30, n. 2, p. 55-73, 1990.
- CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna: JAGUARUÍNA, 2003.
- CARNEIRO, S. M. de T. P. G. Efeito de extratos de folhas e do óleo de nim sobre o oídio do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v. 29, n. 3, 2003.
- Empaer. **Boletim técnico**, Volume 3 - cultura do cajueiro, do coqueiro e do mamoeiro. Vander Mendonça. Luciana Freitas de Medeiros. Mossoró-RN, 2011
- FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Lavras, v. 6, p. 36-41, 2008.
- ITAKO A.T.; SCHWAN-ESTRADA K.R.F.; STANGARLIN J.R.; TOLENTINO JUNIOR J.B.; CRUZ M.E.S. Controle de *Cladosporium fulvum* em Tomateiro por Extratos de Plantas Medicinais. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.76, p.75-83, 2009.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. p. 95-96.
- MARCANO, D. A. de; VARGAS, N.; PIRE, A. Efecto de extractos vegetales y fungicidas sintéticos sobre el crecimiento micelial in vitro de *Sclerotium rolfsii* y *Thielaviopsis basicola*. **Revista de la Facultad de agronomia de la Universidad Central de Venezuela**, Caracas. V. 22, n. 4, 2005.
- Menezes, M.; Karam, M.Q.; Lima, J.A.A.; Parente, J.I.G. **Estudo da época e frequência de pulverizações no controle da antracnose do cajueiro. Fitossanidade 1:70-71**, 1975. M. Menezes - UFRPe, Recife, PE.
- MENEZES M. **Doenças do cajueiro** In **Manual de fitopatologia**/editado por Hiroshi Kimari... [et al]. - 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres. 1995- 1997. 2v.: il. Conteúdo: v. 1 Princípios e conceitos - v. 2 Doenças das plantas cultivadas. p 193-199 .Cap 18.
- Oliveira, V.P.; Menezes, M.; Lima, J.A.A. **Fase ascógena e patogenicidade do agente da antracnose do cajueiro, Anacardium occidentale L.** Cad. Ômega, UFRPB, Série Agron. Recife, 1(1):89-95,1985.
- RIBEIRO, L. F.; BEDENDO, I. P. **Efeito inibitório de extratos vegetais sobre Colletotrichum gloeosporioides - agente causal da podridão de frutos de mamoeiro.** **Scientia Agrícola**. v. 56, p.1267-1271, 1999.
- RODRIGUES, A.A. **Efeito dos extratos vegetais de cinamomo e mamona no controle in vitro DE Asperisporium caricae.** XIV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e X Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba. (2010).
- SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. **Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos.** **Revista Floresta**, v.30, p.129-37, 2000.
- 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.



I SEMINÁRIO DE BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS AMAZÔNICOS

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

STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E.S.; NOZAKI, M. H. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnia Ciência & Desenvolvimento**, v. 2, n. 11, p16-21, 1999.

VENTUROSO, L.R.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L. **Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos.** Summa Phytopathologica, v.37, n.1, p.18-23, 2011.