



Controle in vitro de isolados de *Fusarium* sp. com extratos e óleos essenciais no município de Alta Floresta - MT.

*In vitro control of *Fusarium* sp. with extracts and essential oils in the municipality of Alta Floresta - MT.*

DAVID, Grace¹; CERESINI, Paulo²; SILVA, Robson¹; PERES, Walmor¹; SORATO, Adriana¹; MEDEIROS, Tainara¹

¹Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), grace@unemat.br; robsonhenriquesilva@hotmail.com; walmorperes@unemat.br; tainara_rafaely@hotmail.com; adrianasorato@unemat.br; ²Universidade Estadual Paulista (UNESP) pauloceresini@yahoo.com

Tema Gerador: Manejo de Agroecossistemas e Agricultura Orgânica

Resumo

O fungo *Fusarium* sp. é um importante componente da microflora em todo o mundo. A grande quantidade de espécies deste gênero nos dá a imensidão de espécies vegetais que este acomete. Seu controle se faz necessário devido aos prejuízos que causa. A utilização de produtos naturais tem apresentado Resultados satisfatórios, pois além da fácil aquisição, preparo e utilização não agredem o ambiente e possuem baixo custo, favorecendo principalmente o pequeno agricultor. Este trabalho teve por objetivo testar diferentes extratos vegetais e óleos essenciais para o controle de *Fusarium* sp. que está relacionado às diversas cultivares, principalmente de pequenos produtores, na região do município de Alta Floresta - MT. O tratamento que apresentou melhor controle sobre o crescimento de *Fusarium* sp. foi o óleo de mamona, demonstrando maior suprimento da miceliação, pela menor colonização do fungo quando comparado com óleo de Nim, extrato de chapéu de Napoleão extrato de comigo-ninguém-pode.

Palavras-chave: controle alternativo; fitopatógenos; inibição fúngica.

Abstract

The fungus *Fusarium* sp. Is an important component of microflora throughout the world. The great amount of species of this genus gives us the immensity of vegetal species that it affects. Your control is necessary because of the damage it causes. The use of natural products has presented satisfactory results, since besides the easy acquisition, preparation and use do not attack the environment and have low cost, favoring mainly the small farmer. This work aimed to test different plant extracts and essential oils for the control of *Fusarium* sp. Which is related to the various cultivars, mainly of small producers, in the region of the municipality of Alta Floresta - MT. The treatment that presented better control on the growth of *Fusarium* sp. Was the castor oil, showing a higher supply of mycelium, due to the lower colonization of the fungus when compared to Nim oil, Napoleon's cap extract extract from me-no-one can

Keywords: alternative control; phytopathogens; inhibition fungal.



Introdução

O gênero *Fusarium* foi descrito pelo micólogo alemão Link, em 1809 (Urban et al., 2009). O gênero inclui uma série de patógenos de vegetais com importância econômica, possui em torno de 775 espécies e subespécies. Apresenta ampla distribuição, sendo encontrado no solo, ar, plantas e alimentos (Mendes e Urban, 2017).

Para Grigoletti, et al. (2001) e Andrade (1999), *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp. e *Pythium* sp. são os principais gêneros de fungos associados a podridão de raízes de erva-mate em sementeiras ou em mudas já transplantadas nas embalagens. Nas sementeiras, os sintomas ocorrem em reboleiras ou em plântulas esparsas. Em mudas já transplantadas, podem ocorrer em algumas embalagens e, ambos os casos, estão relacionados ao excesso de umidade. Os principais sintomas da parte aérea são a redução do crescimento, a queima e a seca das folhas que iniciam a partir da extremidade do limbo. No sistema radicular, observa-se um crescimento reduzido com escurecimento e apodrecimento das raízes.

Nas últimas décadas, o controle das doenças e pragas na agricultura tem se intensificado, sendo realizado basicamente através do emprego de produtos sintéticos, com elevados custos e riscos ambientais (desequilíbrio ecológico) e toxicológicos (elevada concentração nos alimentos). Isso tem levado muitos profissionais à pesquisa de métodos alternativos de controle de fitopatógenos, como os princípios ativos de extratos vegetais (Fiori-tutida et al., 2007). A busca de substitutos para estes produtos tem encontrado nas plantas uma alternativa de interesse econômico e ecológico bastante promissor. O uso de extratos vegetais e óleos essenciais têm sido fonte de inúmeras pesquisas que validam sua eficácia (Hernandez et al., 1998; Owolade et al., 2000; Souza et al., 2002; Morais, 2004). A utilização de produtos naturais tem apresentado resultados satisfatórios, pois além de serem de fácil aquisição, preparo e uso estes não agredem o meio ambiente e possuem baixo custo de produção, favorecendo principalmente o pequeno agricultor.

De todos princípios ativos encontrados nos vegetais, os alcalóides e os óleos essenciais formam o grupo de compostos com maior número de substâncias biologicamente ativas (Di Stasi, 1996). Diversos estudos apontam que os óleos essenciais, atuam como inibidores da germinação, na proteção contra predadores, na atração de polinizadores, na proteção contra perda de água e aumento da temperatura (Bruneton, 1991; Simões & Spitzer, 2000).



Trabalhos desenvolvidos com extratos vegetais e óleos essenciais, extraídos de plantas medicinais têm revelado seu potencial no controle de fitopatógenos (Cunico et al., 1999), agentes causadores de doenças em vegetais que acarretam perdas significativas na produção, destruição de grãos durante a estocagem, diminuição do valor nutritivo e, algumas vezes, produção de micotoxinas prejudiciais ao homem e aos animais (Velluti et al., 2004).

De acordo com Bhavanani & Ballow (1992) aproximadamente 60% dos óleos vegetais possuem atividades antifúngicas e 35% exibem propriedades antibacterianas. Existem relatos sobre a atividade antifúngica (Dikshit et al., 1986), antimicrobiana (Gundidza, 1993), inseticida (Chantraine et al., 1998).

O presente estudo teve por objetivo testar in vitro diferentes extratos vegetais para o controle do fitopatógeno *Fusarium* sp. encontrado acometendo diversas cultivares, principalmente de pequenos produtores, na região do município de Alta Floresta - MT.

Material e Métodos

O presente estudo foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT, localizado no município de Alta Floresta - MT.

Foram realizadas visitas técnicas em áreas de cultivo em assentamentos rurais do entorno do município, onde efetuou-se a coleta de amostras de Materiais biológicos sintomáticos de plantas cultivadas comercialmente. As amostras foram levadas ao laboratório para a confirmação da etiologia do patógeno e isolamento em cultura pura para posterior avaliação do efeito dos extratos aquosos e óleos essenciais in vitro.

O fungo *Fusarium* sp. foi obtido de uma cultura de maracujazeiro a partir de folhas que apresentaram os sintomas típicos causado pelo patógeno, procedeu-se o plaqueamento em meio de cultura batata dextrose ágar (BDA), conforme método descrito por Alfenas e Mafia (2007), com algumas adequações, no qual com o auxílio de um instrumento cortante, devidamente flambado, foram cortados pequenos fragmentos da margem da lesão da área foliar e, distribuídos de forma equidistante na superfície do meio. Em seguida, estas foram incubadas em câmara de crescimento (BOD) a uma temperatura de 25°C com fotoperíodo de 12 horas.

Para a obtenção de culturas puras os fungos foram repicados em placas contendo meio BDA acrescido de penicilina 1g.L-1 e incubados por período de 15 dias. Das colônias puras foram preparadas lâminas de microscopia, para observação das estruturas fúngicas.



A identificação foi realizada por meio de visualizações em microscópio óptico e mediante a consultas bibliográficas e chave de classificação de Barnet e Hunter (1972), onde procedeu-se a identificação do agente etiológico.

Após a identificação do agente causal foram realizados testes de controle in vitro pelo uso de extrato de caule de comigo-ninguém-pode (macerado em água na proporção 1/1), extrato de frutos verdes de chapéu de Napoleão (macerado em água na proporção 1/1), extrato de óleo de mamona (diluído em detergente neutro na proporção 1/1) e óleo de Nim na formulação comercial.

As unidades experimentais (placas de Petri) foram avaliadas quanto ao crescimento micelial do fungo, mediante medições a cada dois dias, por um período de 14 dias, sendo mantidas em câmara de crescimento com fotoperíodo controlado de 12 horas e temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade pelo Programa Sisvar® (Ferreira, 2003).

Resultados e Discussão

Neste estudo foi observado que a melhor ação fungistática sobre o crescimento micelial de *Fusarium* sp. foi verificada com a utilização de óleo de mamona tratamento 5 (Tabela 01.) demonstrando esse maior suprimento da miceliação, pela menor colonização do fungo quando comparado com óleo de Nim, extrato de chapéu de Napoleão extrato de comigo-ninguém-pode.

Tabela 01. Crescimento micelial de *Fusarium* sp. (mm), em função de doses de extratos vegetais e óleos essenciais: Tratamento 01 (0,00 mL testemunha); Tratamento 02 (1,00 mL Chapéu de Napoleão 1/1); Tratamento 03 (1,00 mL de Comigo ninguém pode 1/1), Tratamento 04 (Óleo de Nim na formulação comercial), tratamento 05 (1,00 mL de óleo de mamona diluído em detergente neutro 1/1), Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia - Universidade do Estado de Matos Grosso, Alta Floresta - MT, 2012.

Doses (mL)	Médias						
	Crescimento Micelial (mm)						
	1ª Av.	2ª Av.	3ª Av.	4ª Av.	5ª Av.	6ª Av.	7ª Av.
TRAT. 1	3,70 a	5,50 ab	8,70 a	12,10 a	13,60 a	13,10 a	14,70 a
TRAT. 2	3,40 a	6,70 a	9,20 a	11,20 a	12,90 a	14,40 a	15,40 a
TRAT. 3	2,35 a	3,70 bc	6,00 a	9,40 a	10,70 a	13,00 a	15,60 a



TRAT. 4	0,00 b	2,20 c	4,60 ab	6,40 ab	9,70 a	11,80 a	13,90 a
TRAT. 5	0,00 b	0,20 d	0,80 b	1,30 b	1,60 b	1,70 b	1,80 b
CV%	25,90	15,38	31,83	29,75	29,52	30,39	29,27

* Médias transformadas em raiz de x. Médias seguidas de mesma letra dentro da mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Em comparação com os demais Resultados e com a testemunha é possível observar que o extrato de chapéu de Napoleão (tratamento 2) e o extrato de comigo-ninguém-pode (tratamento 3) foram os menos promissores na inibição do crescimento micelial de *Fusarium* sp. sendo que ambos promoveram crescimento micelial do patógeno no 7º dia de avaliação sendo dessa forma superior a testemunha.

Nas quatro primeiras avaliações houve uma pequena inibição no crescimento micelial de *Fusarium* sp. com utilização de óleo de Nim (tratamento 4) sendo mais satisfatório na primeira avaliação, porém após da 5ª avaliação o mesmo demonstrou comportamento semelhantes ao tratamento 2 e 3 (Tabela 01) descartando o seu potencial fungistático sobre *Fusarium* sp.

Segundo Stangarlin, et al. (1999), trabalhos têm sido realizados visando potencializar o uso de extratos vegetais no controle de fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas, várias propriedades são atribuídas aos compostos obtidos de plantas, porém, a avaliação desses compostos com finalidade de controle de microrganismos patogênicos de plantas cultivadas é recente, tendo em vista a escassez de trabalhos nessa área.

Segundo Takano, et. al. (2007) o detergente derivado do óleo da mamona (DOM) é um agente potencial para o controle de doenças em plantas, tais como antracnose, brusone e giberela, pois apresenta efeito inibitório sobre o desenvolvimento in vitro dos patógenos *Colletotrichum lindemuthianum*, *Pyricularia grisea* e *Fusarium graminearum* sendo que o DOM inibiu em até 100% o crescimento miceliano de *C. lindemuthianum* e *P. grisea*. No controle do desenvolvimento de *F. graminearum*, DOM foi mais inibitório na germinação de conídios do que o crescimento micelial do patógeno.



Em trabalhos desenvolvidos por Bestete et al (2011) foi constatado que o óleo de mamona, aplicado por contato e por ingestão, aumenta a mortalidade de *Helicoverpa zea* sendo que o efeito do óleo por contato é maior que por ingestão a concentrações menores que 1,5% e que em concentrações de 3% se torna possível a redução do número de ovos de *H. zea* parasitados por *Trichogramma pretiosum*.

Lins Júnior, et. al. (2007) observou mortalidade de 86,6% no tratamentos com óleo de Nim a 2% e 79,9% no tratamento com óleo de mamona a 2%, no controle de bicudo-do-algodoeiro (*Anthonomus grandis*) sendo esses Resultados considerados promissores mostrando a potencialidade da utilização do óleo dessas duas plantas no controle de *A. grandis*.

Conclusão

Os extratos de comigo-ninguém-pode e chapéu de Napoleão não demonstraram Resultados satisfatórios sendo que promovem o crescimento de *Fusarium* sp. O óleo de mamona demonstrou o melhor efeito fungitóxico para o fungo estudado.

Referências Bibliográficas

- ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G., Métodos em Fitopatologia. Viçosa: Ed. UFV, 382p, 2007. ANDRADE, F. M. Diagnóstico da cadeia produtiva da (*Ilex paraguariensis*) erva-mate. Capturado em <<http://www.unicamp.br/>>, em dezembro de 1999.
- BHAVANANI, S. M.; BALLOW, C. H. New agents for Gram-positive bacteria. Curr Opin Microbiol 13: 528-534. 1992.
- BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. Illustrated genera of imperfect fungi. Burges Publishing Company, Minnessota, 236p. 1972.
- BESTETE, L. R.; PRATISSOLI, D; QUEIROZ, V. T.; CELESTINO, F. V.; MACHADO, L. C. Toxicidade de óleo de mamona a *Helicoverpa zea* a *Trichogramma pretiosum*. Pesquisa agropecuária brasileira vol.46 no.8 Brasília Aug. 2011.
- BRUNETON, J. Elementos de fitoquímica y de farmacognosia. Zaragoza: Editorial Acribia. 1991.
- CHANTRAINE, J. M., LAURENT, D., BALLIVIAN, C., SAAVEDRA, G., IBANEZ, R., VILASECA, A. Insecticidal activity of essential oils on *Aedes aegypti* larvae. Phytother Res 12: 350-354. 1998.



CUNICO, M. M, MIGUEL, O. G, CARVALHO, J. L. S, PEITZ, C., STAMGARLIN, JR, SCHWAN-ESTRADA, K. R. F, CRUZ, M.E.S, NOZAKI, M. H. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. Biotechnol Cien Desen vol 11, pág.16-21. 1999.

DI STASI, L. C. Plantas medicinais: arte e ciência. São Paulo. Editora UNESP. 1996.

DIKSHIT A, NAQVI AA, HUSAIN A. Schinus molle: a new source of natural fungitoxicant. Appl Environ Microbiol 51: 1085-1088. 1986.

FERREIRA, D. F. Sisvar versão 4.6. Lavras: DEX/UFLA, 32 p. 2003.

FIORI-TUTIDA, A. C. G.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Extratos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* sobre *Bipolaris sorokiniana* e *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*, in vitro. Summa phytopathologica. V. 33, n. 3, p.287-289. 2007.

GUNDIDZA, M.; Antimicrobial activity of essential oil from Schinus molle Linn. Central Afr J Med 39: 231-234. 1993.

GRIGOLETTI, J.A.; AUER, C.G.; Podridão de raízes em erva-mate (*Ilex paraguariensis*) causada por *Fusarium* sp. Fitopatologia Brasileira, Vol. 26 suplemento, 2001. 572p.

HERNANDEZ, A. A. M., ROSAS, R. M., AGUILERA, P. M. M. & LAGUNES, T. A. Use of plant and mineral powders as an alternative for the control of fungi in stored maize grain. Agrociência 32:75-79. 1998.

LINS JÚNIOR, J. C.; NASCIMENTO, M. L.; MENEZES, A. M. S.; RODRIGUES, Í. J. S.; LIMA, E. S. A. Controle alternativo do bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae). Revista Brasileira de Agroecologia outubro. Vol.2, Nº 2. 2007.

MENDES, M. A. S.; URBEN, A. F.; Fungos relatados em plantas no Brasil, Laboratório de Quarentena Vegetal. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Disponível em: <http://pragawall.cenargen.embrapa.br/aqwweb/michtml/fgbanco01.asp>. Acesso em: 10/4/2017.

MORAIS, M.S. Efeito de dois extratos vegetais sobre o desenvolvimento de *Fusarium oxysporum* e da incidência da murcha em feijão-vagem. Dissertação de Mestrado. Areia PB. Universidade Federal da Paraíba. 2004

OWOLADE, O.F., AMUSA, A.N. & OSIKANLU, Y.O.Q. Efficacy of certain indigenous plant extracts against seed-borne infection of *Fusarium moniliforme* on maize (*Zea mays* L.) in south western Nigeria. Cereal Research Communications 28:323-27. 2000.



VI CONGRESSO LATINO-AMERICANO
X CONGRESSO BRASILEIRO
V SEMINÁRIO DO DF E ENTORNO
12-15 SETEMBRO 2017
BRASÍLIA- DF, BRASIL

Tema Gerador 9

Manejo de Agroecossistemas
e Agricultura Orgânica



SIMÕES, C. M. O, SPITZER, V. Óleos Voláteis. In: SIMÕES, C. M. O, SCHENKEL, E. P., GOSMANN, G., MELLO, J. C. P., MENTZ, L. A., PETROVICK, P. R. Farmacognosia da Planta ao medicamento. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 397-426. 2001.

SOUZA, M.A.A., BORGES, R.S.O.S., STARK, M.L.M. & SOUZA, S.R. Efeito de extratos aquosos, metanólicos e etanólicos de plantas medicinais sobre a germinação de sementes de alface e sobre o desenvolvimento micelial de fungos fitopatogênicos de interesse agrícola. Revista Universidade Rural 22:181-185. 2002.

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, v. 2, n. 11, p.16-21, 1999.

TAKANO, et al. Inibição do desenvolvimento de fungos fitopatogênicos por detergente derivado do óleo de mamona (*Ricinus communis*). Ciência Rural. Santa Maria. V37, nº 5, p 1235-1240. 2007.

URBEN, A. F. et al.; Curso de Taxonomia de Fusarium, Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2009.

VELLUTI, A., SANCHIS, V., RAMOS, A. J., TURON, C., MARÍN, S. Impact of essential oils on growth rate, zearalenone and deoxynivalenol reduction by *Fusarium graminearum* under different temperature and water activity conditions in maize grain. J Appl Microbiol 96: 716-724. 2004.