

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE EDUCAÇÃO, AGRICULTURA E AMBIENTE
CURSO DE AGRONOMIA

Avaliação do efeito antifúngico de extratos de plantas no controle do *Fusarium oxysporium f.sp. cubense in vitro* e em rizomas de *Heliconia sp.*

Humaitá-AM
Setembro de 2013.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE EDUCAÇÃO, AGRICULTURA E AMBIENTE
CURSO DE AGRONOMIA

Avaliação do efeito antifúngico de extratos de plantas no controle do *Fusarium oxysporium f.sp. cubense in vitro* e em rizomas de *Heliconia sp.*

Aluna: Naíme Andreotti David
Orientadora: Dr^a. Ana Verônica Silva do Nascimento

“Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao colegiado de Agronomia do Instituto de Educação, Agricultura e Ambiente, como parte dos requisitos básicos para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo”.

Humaitá-AM
Setembro de 2013.

D249a David, Naíme Andreotti.

Avaliação do efeito antifúngico de extratos de plantas no controle do *Fusarium oxysporium f. sp. cubense in vitro* e em rizomas de *Heliconia sp* / Naíme Andreotti David.-- 2013.
60 f. ; il.

Monografia (Engenheiro Agrônomo) – Universidade Federal do Amazonas, curso de Agronomia, Humaitá, 2013.

Orientador: Prof. Dra. Ana Verônica Silva do Nascimento.

1. *Heliconia sp*. 2. Controle alternativo. 3. Extratos vegetais. I. Ana Verônica Silva do Nascimento. II. Título.

CDU: 63.582.28



Universidade Federal do Amazonas – UFAM
Campus Vale do Rio Madeira – CVRM
Instituto de Educação, Agricultura e Ambiente – IEAA
Coordenação do Curso de Agronomia

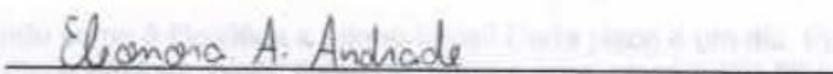
Avaliação do efeito antifúngico de extratos de plantas no controle do *Fusarium oxysporium f.sp. cubense in vitro* e em rizomas de *Heliconia sp.*

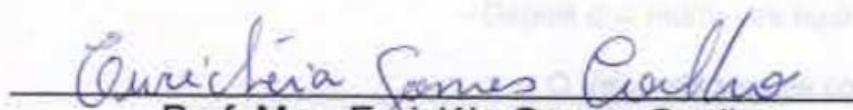
por

Naime Andreotti David

Trabalho de conclusão de curso defendido e aprovado em 13 de setembro de 2013 pela banca examinadora constituída pelos professores abaixo:


Prof. Dra. Ana Verônica Silva do Nascimento
(Orientadora/Avaliadora)


Prof. Dra. Eleonora Alvarenga de Andrade
(Avaliadora)


Prof. Msc. Euricléia Gomes Coelho
(Avaliadora)

“(…) - E como sou filósofa – continuou Emília – quero que minhas memórias comecem com a minha filosofia da vida. A vida, Senhor Visconde, é um pisca-pisca. A gente nasce, isto é, começa a piscar. Quem pára de piscar, chegou ao fim, morreu! – viver é isso.

O Visconde ficou novamente pensativo, de olhos no teto.

Emília riu-se.

- Está vendo como é filosófica a minha idéia? Cada pisco é um dia. Pisca e mama; pisca e anda; pisca e brinca; pisca e estuda; pisca e ama; pisca e cria filhos; pisca e geme os reumatismos; por fim pisca pela última vez e morre.

- E depois que morre? – perguntou o Visconde.

- Depois que morre vira hipótese. É ou não é?

O Visconde teve de concordar que era.”

*(Trecho do livro: Memórias de Emília
Por: Monteiro Lobato)*

DEDICO

À minha família, por todo o incentivo, pelo o apoio e amparo durante a minha jornada acadêmica. Por ser a minha base. Por tudo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida, por tudo que eu pedi e me foi concedido e por tudo que ainda está por vir.

A Universidade Federal do Amazonas, por todo o conhecimento adquirido e pela oportunidade de execução do curso.

A Professora Dr^a. Ana Verônica Silva do Nascimento, pelas orientações e, por todo o apoio e incentivo durante a minha graduação.

As professoras, Eleonora Alvarenga de Andrade e Euricléia Gomes Coelho, pelas correções e sugestões oferecidas a fim de melhorar a qualidade técnica/científica deste trabalho.

Ao professor Valdemir Câmara de Araújo (*in memória*), pela amizade e conselhos que serão sempre lembrados.

A todos os professores do colegiado do curso de agronomia, pela prestação, orientações e perseverança a fim de aprimorar os meus conhecimentos técnicos e científicos.

Aos técnicos dos laboratórios de Química e Engenharia Ambiental do IEAA/UFAM, por gentilmente ceder reagentes e acondicionar os extratos vegetais durante o preparo, sem estas prestações não seria possível a condução deste trabalho.

Aos colegas do laboratório de Fitossanidade, Júlio César Meinhardt e Maria Clécia Gomes Sales, pela amizade e ajuda com a execução deste trabalho.

A todos os amigos, em especial a Maria Francisca Cruz, Giovana Tenório e Ivalmir Abadias pela ajuda na execução deste trabalho e por todos os momentos que tornaram a minha graduação mais agradável e descontraída. A minha amiga Dandara Rodrigues, por sempre estar ao meu lado nos momentos alegres e difíceis. À Michele de Paula, Gabriel Sousa, Márcio Macedo e Maicon Passos, por todos os momentos de descontração durante a minha jornada acadêmica e pela amizade sincera construída que será para sempre. À Ediana Pereira, Thiago Souza, Maicon Sene, Cleisson Hugo, Jeferson Barros, Elenilson Barroso, Francisco Fonseca, José Cunegundes, Raimundo Nonato, Adriana Braga, Luziana Rocha e Rayele Nogueira, pela amizade ao decorrer dos anos da graduação.

A todos os colegas do curso de Agronomia, por fazerem parte da minha jornada acadêmica.

Aos demais e a todas as pessoas que direta ou indiretamente me ajudaram de todas as formas possíveis na condução deste trabalho, especialmente as que me ajudaram a crescer e amadurecer profissionalmente.

OBRIGADA!

SUMÁRIO

	página
LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xii
CAPÍTULO 1 – Introdução Geral.....	1
RESUMO	2
ABSTRACT.....	3
1.1. INTRODUÇÃO	4
1.2. REVISAO DE LITERATURA	7
1.3. OBJETIVOS	14
1.3.1. Geral.....	14
1.3.2. Específicos	14
1.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15
CAPÍTULO 2 - Avaliação da atividade antifúngica de extratos vegetais no controle in vitro do <i>Fusarium oxysporium</i> f.sp. <i>cubense</i>	21
RESUMO	22
ABSTRACT.....	23
2.1. INTRODUÇÃO	24
2.2. MATERIAL E MÉTODOS	25
2.2.1. Coleta e localização da área	25
2.2.2. Isolamento e manutenção dos isolados	25
2.2.3. Teste de Patogenicidade do fungo <i>Fusarium oxysporium</i> f.sp. <i>cubense</i>	26
2.2.4. Preparo dos extratos.....	26
2.2.5. Experimento 1. Extrato homogeneizado ao meio BDA.....	26
2.2.6. Experimento 2. Extrato no papel filtro	27
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
2.3.1. Teste de Patogenicidade do fungo <i>Fusarium oxysporium</i> f.sp. <i>cubense</i>	29
2.3.2. Experimento 1. Extrato homogeneizado ao meio BDA	29
2.3.3. Experimento 2. Extrato no papel filtro	32
2.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
CAPÍTULO 3 - Uso de extrato de plantas no tratamento de rizomas de <i>Heliconia rostrata</i> Ruiz & Pav para testar o controle do <i>Fusarium oxysporium</i> f.sp. <i>cubense</i>	37
RESUMO	38
ABSTRACT.....	39
3.1. INTRODUÇÃO	40

3.2. MATERIAL E MÉTODOS	41
3.2.1. Coleta	41
3.2.2. Preparo dos extratos.....	41
3.2.3. Tratamentos de rizomas com extrato de plantas.....	41
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
3.4. CONCLUSÕES	46
3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
4. CONCLUSÕES GERAIS	48

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Crescimento micelial (CM) e esporulação (E) do fungo <i>Fusarium oxysporium</i> f.sp. <i>cubense</i>	31
TABELA 2. Crescimento micelial (CM) e esporulação (E) do fungo <i>Fusarium oxysporium</i> f.sp. <i>cubense</i>	33
TABELA 3. Escala de notas empregadas na avaliação do crescimento fúngico sobre o rizoma de helicônia.....	42

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Etapas da montagem do experimento. A) Diluição dos extratos; B) Uso das diluições para umedecimento do papel filtro; C) Placas vedadas.....	28
FIGURA 2. Teste de patogenicidade do <i>Fusarium oxysporium f.sp. cubense</i> . A) Testemunha; B) Após 48 horas em câmara úmida; C) 7 dias após a inoculação do fungo e; D), E), F) 15 dias após a inoculação do fungo.....	29
FIGURA 3. Crescimento micelial do fungo <i>Fusarium oxysporium f.sp. cubense</i> . A) Concentração de 5%, B) Concentração de 10%, C) Concentração de 15%, D) Concentração de 100%. a) Tratamentos de alho, m) tratamentos de mastruz, h) tratamentos de hortelã. 1) Tratamento alcoólico. 2) Tratamento acético.....	30
FIGURA 4. Crescimento micelial do fungo <i>Fusarium oxysporium f.sp. cubense</i> . A) Concentração de 5%, B) Concentração de 10%, C) Concentração de 15%, D) Concentração de 100%. a) Tratamentos de alho m) tratamentos de mastruz, h) tratamentos de hortelã. 1) Tratamento alcoólico. 2) Tratamento acético.....	32
FIGURA 5. Tratamentos em rizomas de helicônia com 48 horas em câmara úmida.....	42
FIGURA 6. Notas atribuídas aos tratamentos com extrato acético em rizomas de helicônia.....	43
FIGURA 7. Notas atribuídas aos tratamentos com extrato alcoólico em rizomas de helicônia.....	44

CAPÍTULO 1

Introdução Geral

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi testar extratos de plantas no controle micelial e esporulação do *Fusarium oxysporium f.sp. cubense* de *Helicônia sp.* Foram coletadas plantas com sintomas de murcha por *Fusarium* e levadas para o laboratório de Fitossanidade da UFAM/IEAA para diagnóstico, em meio de cultivo BDA (batata, dextrose e ágar). Para testar a inibição do fungo foram utilizados três metodologias, utilizando alho (*Allium sativum* L.), mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.) e hortelã (*Mentha piperita* L.) como material vegetal para os extratos alcoólico e acético. No primeiro experimento os extratos foram diluídos e homogeneizados ao meio BDA. No segundo, a aplicação do extrato foi feito em papel filtro, posicionado sobre a tampa da placa de Petri, utilizando meio de cultura BDA para crescimento do fungo. Nos dois experimentos foram avaliados o crescimento micelial e a esporulação do fungo. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, comparando as médias pelo teste de Tukey a 5% com auxílio do programa SISVAR, versão 5.3. No terceiro experimento, o tratamento com extratos foi feito em rizomas de helicônia, onde foram avaliados a infecção e o grau de infecção, com notas, de 0 a 5. Os três experimentos foram mantidos em DIC, sob condições de fotoperíodo de 12 horas e temperatura de $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$, e com as concentrações de 0%, 5%, 10%, 15% e 100% de extrato. Os extratos preparados com ácido acético obtiveram controle significativo sobre o fungo nos três experimentos. Entre os tratamentos alcoólicos, o extrato de alho obteve maior controle quando incorporado ao meio. Com o extrato aplicado no papel filtro, o controle foi maior nos tratamentos de hortelã em todas as concentrações. Quando em contato com os rizomas, os extratos não obtiveram controle do crescimento micelial do fungo.

Palavras-Chave: *Heliconia sp.*, *Fusarium oxysporium f.sp. cubense*, controle alternativo, extratos vegetais.

ABSTRACT

The purpose of this study was to test plant extracts in mycelial control and sporulation of *Fusarium oxysporium f.sp. cubense* by *Heliconia sp.* Were collected plants with symptoms of *Fusarium* disease and taken to the Plant Protection UFAM / IEAA laboratory to diagnostic among the PDA culture (potato, dextrose and agar). For testing fungus inhibition were used three different methods of control using garlic (*Allium sativum L.*) mastruz (*Chenopodium ambrosioides L.*), mint (*Mentha piperita L.*) and yet vegetable material to the alcohol and acetic acid extracts. In the first experiment, the extracts were diluted and homogenized to the BDA media. In the second the application of the extract was made on filter paper, placed on the cap of the Petri dish using PDA culture medium for fungus growth. In both experiments were analyzed mycelial growth and fungus sporulation. The data has been subjected to analysis of variance by F test, comparing the average by Tukey test at 5% using the program SISVAR, version 5.3. In the third experiment, the treatment with extracts was done in heliconia rhizomes, which were analyzed the infection and the degree of infection, with notes, 0-5. The three experiments were kept in DIC under photography period conditions of 12 hours and a 25°C ± 2°C temperature, in the concentrations of 0%, 5%, 10%, 15% and 100% of extract. The extracts preparations with acetic acid had significant control over the fungus in all experiments. Among the alcoholics treatments , the garlic extract got greater control when embedded in the media. With the extract applied to the filter paper, the control was higher in treatments mint. When in contact with rhizomes, the extracts did not obtain control of mycelial growth.

Keywords: *Heliconia sp.*, *Fusarium oxysporium f.sp. cubense*, alternative control, vegetable extracts.

1.1. INTRODUÇÃO

As culturas de importância agrícola para as comunidades produtoras do sul do Amazonas, precisamente no município de Humaitá, AM, são comumente afetadas por patógenos como fungos, bactérias, vírus e nematóides que comprometem negativamente a produção, e que, muitas vezes, podem estar associadas às plantas ornamentais.

As helicônias (*Heliconia sp.*) desempenham importante papel dentro dos ecossistemas, pois compõem a flora dos bosques e sub-bosques (Albuquerque, *et al.*, 2010). Em alguns desses ecossistemas essas espécies atuam como pioneiras no processo de regeneração natural da vegetação e restauração de solos degradados, constituindo-se um significativo elemento dentro do sistema de florestas tropicais úmidas (Farias, 2004).

As plantas da espécie de helicônia compreendem um dos grupos mais vistosos de plantas herbáceas das florestas tropicais. A região amazônica é privilegiada no que diz respeito a clima e umidade ideal para o cultivo (Arruda, *et al.*, 2008; Lamas, 2002). Além das florestas nativas, as helicônias são bastante comuns em jardins decorativos. Podem ser encontradas em altitudes que variam de 0 a 2.000 metros e, em geral, se desenvolvem em ambientes úmidos plantadas em solos arenosos ou argilosos com pH ente 4,5 a 6,5 (Torres *et al.*, 2005).

Dentre as flores tropicais, as helicônias são as mais comercializadas, devido à exotividade, cores exuberantes e rusticidade. Até a década de 80, o principal aproveitamento era para o paisagismo, a partir de então, iniciaram-se cultivos comerciais para a produção de flores de corte (Lamas, 2002). Como planta ornamental, oferece potencial econômico para a região, que até o momento, pouco pesquisado. A possível explicação para a subutilização das plantas na região é oriunda de dificuldades dos produtores rurais e artesanais em percorrerem as cadeias produtivas sozinhos (Guimarães, 2001), além disso, os produtores enfrentam grandes problemas com tudo que pode afetar a exuberância e beleza das plantas, como o transporte, fatores ambientais e problemas fitossanitários (Lins & Coelho, 2004). Em relação à fitossanidade, Pitta (1999) menciona que fungos, vírus, bactéria e nematóides podem limitar a produção e alterar a qualidade do produto.

No Brasil, os estudos sobre problemas fitossanitários de plantas ornamentais têm sido objeto de diversos trabalhos (Pitta, 1999; Almeida *et al.*, 1997). Devido às condições de cultivo das plantas ornamentais, em uma região tropical de temperaturas altas e umidade, além da densidade de plantio, ocorre um favorecimento para a ocorrência de doenças, principalmente fungicas, que limitam a produção e reduzem a qualidade das flores (Baia *et al.*, 2011).

A fusariose é uma doença muito comum em tal região, e difícil de ser controlada. Para evitar a ocorrência e disseminação na área de plantio é muito importante adotar cuidados preventivos como erradicação de plantas infectadas, eliminação de focos e touceiras infectadas e cultivo de variedades resistentes (Blancard *et al.*, 1996; Braga, 1976; Rosales *et al.*, 2003). A severidade da doença pode ser amenizada evitando condições de alta umidade e temperatura, devendo-se então evitar solos argilosos, mal drenados e com fertilidade desequilibrada (Bianchini *et al.*, 1997). Domingos & Andrade (2005) mencionam que para não ter problemas com o fungo é importante a seleção de áreas livres de ocorrência, inspeção e certificação de materiais propagativos, pousio, solarização do solo, calagem, tratamento de substratos, rotação de cultura, evitar ferimentos no colo da planta e realizar a remoção dos restos culturais da área.

O tratamento químico no controle de fitopatógenos é muito utilizado na agricultura. Os benefícios são muitos, bem como as consequências pelo uso indiscriminado (Venturoso, 2009). O uso racional destes produtos, a curto prazo, pode resolver o problema, mas a longo prazo podem gerar indivíduos resistentes, além da poluição causada por resíduos. Em vista disso, um dos enfoques das pesquisas é o controle alternativo fitossanitário por produtos alternativos a produtos químicos, o qual inclui o controle biológico e a indução da resistência em plantas (Bettioli, 1991). Defensivos alternativos podem ser conceituados em produtos que são preparados a partir de substâncias não prejudiciais à saúde e ao meio ambiente, que tenham alta eficiência no controle de artrópodes e microrganismos nocivos sem favorecer a resistência, que tenha fácil disponibilidade, custo reduzido e que não seja tóxico (Fernandes *et al.*, 2006).

No controle alternativo, extratos botânicos têm sido estudados por se tratar de um material de origem vegetal e que, por ser natural, é menos tóxico que defensivos químicos (Stangarlin *et al.*, 1999), além disso, não existem produtos

fitossanitários registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o controle de doenças em helicônia (Sobrinho, 2008).

Dentre as muitas espécies de plantas usadas nas pesquisas para o controle alternativo, destaca-se o alho (*Allium sativum*), por conter a aliinase e aliína. Quando a membrana destas se rompem, formam a alicina, responsável por defesas da planta, e por seus efeitos, inativam microorganismos (Heinzmann, 2001). O hortelã (*Mentha* sp.) e mastruz (*Chenopodium ambrosioides*) também são muito estudados por suas propriedades farmacêuticas, como planta medicinal ou aromatizante, o mastruz tem ainda efeitos fungicida e inseticida (Baia *et al.*, 2011).

Em relação às concentrações de extrato usadas nas pesquisas, tem-se constatado diferenças no desenvolvimento dos fitopatógenos. Quanto maior a concentração, maior é a tendência de controlar o crescimento do patógeno (Venturoso, 2009), buscando sempre o maior controle na menor concentração de extrato.

É notável a importância de pesquisas relacionada ao uso de óleos e extratos vegetais como alternativa de controle para fitopatógenos tornando-se fundamental a realização de trabalhos visando ampliar os conhecimentos científicos sobre o assunto.

1.2. REVISAO DE LITERATURA

1.2.1. Aspectos gerais das helicônias

O nome “Heliconia” é derivado de “Helicon”, uma montanha na Grécia, conhecido pelos antigos gregos como a casa das Musas, assim sugerindo um primeiro relacionamento entre estas plantas e as bananeiras (Berry & Kress, 1991).

As helicônias são plantas nativas dos trópicos da região que abrange o continente americano. Esse gênero de plantas ocorre com ampla distribuição entre a América Central e América do sul, regiões estas, que de acordo com Kress (1990) e Castro & Graziano (1997) caracterizaram em trabalhos como de solos ricos em nutrientes e de altos índices pluviométricos.

Originalmente, as helicônias pertenciam à família das bananeiras (Musaceae), devido às características semelhantes entre estas plantas, mas foi por peculiaridades que as helicônias passaram a constituir a família Heliconiaceae (Castro, 2007). O gênero *Heliconia* atualmente é o único representante da família Heliconiaceae, existindo cerca de 250 espécies das quais 98% são nativas da América Tropical e 30 nativas do Brasil (Lamas, 2002).

A família Heliconiaceae está incluída na ordem Zingiberales, juntamente com as famílias Musaceae, Strelitziaceae, Lowiaceae, Zingiberaceae, Costaceae, Cannaceae e Maranthaceae (Atehortua, 1998). As plantas pertencentes a esta ordem, caracterizam-se como herbáceas, rizomatosas, eretas, com porte variável de acordo com a espécie e com folhas de diversos tamanhos. Possuem pseudocaule e brácteas de variados tamanhos, cores e texturas, e de inflorescências eretas ou pendentes (Castro, 1995).

Existem dois grupos distintos de helicônias que, de acordo com Abalo (1999), são as pertencentes ao subgênero *Heliconiopsis*, originárias do Pacífico Sul, e as pertencentes aos subgêneros *Taeniostrobis*, *Stenochlamys* e *Heliconia*, encontradas do norte do México até o noroeste da Argentina.

Quanto ao número de espécies, estima-se que o gênero possua aproximadamente 250 espécies distribuídas inicialmente nos neotrópicos, mas apenas 180 foram descritas até o momento (Berry & Kress, 1991). No Brasil, já foram encontradas cerca de 40 espécies, as mais comuns: *H. acuminata*, *L.*

Richards, H. angusta Vell, *H. auriculata* Barr, *H. aurorea* L., *H. hirsuta* L., *H. pendula* Wawra, *H. psittacorum* L., *H. rostrata* Ruiz & Pavan, e *H. velloziana* L. (Castro & Graziano, 1997), sendo reconhecidas por nomes vulgares como banana-do-mato, bananeira-de-jardim, bico-de-guará, falsa-ave-do-paraíso, bico-de-papagaio, paquevira, pássaro-de-fogo, caeté, asa-de-arara, entre outros (Castro, 1995; Castro & Graziano, 1997; Lorenzi, 2008).

De acordo com Ribeiro *et al.* (2012), as helicônias são plantas herbáceas, variando de 0,5 m a 6,0 m de altura podendo atingir 10 metros conforme a espécie. Apresentam crescimento rizomatoso com emissão de perfilhos, que podem ser agrupados ou adensados (Costa, 2005). As folhas apresentam limbo, pecíolo e bainha, opostas e dispostas em duas fileiras verticais (Torres *et al.*, 2005), são grandes e com nervuras transversais, algumas espécies possuem pêlos ou cera nas folhas (Silva, 2009). Segundo Gallo (2002), essa cerosidade e pilosidade atuam como uma causa morfológica de resistência de plantas a insetos.

De acordo com habito de crescimento e disposição das folhas, Berry & Kress (1991) classificam as helicônias em 3 grupos: musóide, canóide e zingiberóide. Mosca (2005) relata que o grupo musóide tem pecíolos grandes, em posição vertical, a zingiberóide tem pecíolos curtos em posição mais horizontal e a canóide tem posição de pecíolo mais oblíqua e são curtos a médios.

A inflorescência surge no ponto terminal de crescimento do pseudocaule, sendo formada por um pedúnculo alongado no qual estão inseridas as brácteas, em formato de canoa, que variam de tamanho e cor (Paiva, 1998), conforme a espécie. De acordo com Lorenzi (2008), as cores das brácteas variam de vermelho, alaranjada, rósea, amarela e com faixas verdes, a espécie *H. vellerigera* apresenta ainda bráctea pubescente (velutinas). Ainda de acordo com este autor, a cor das flores podem ser a mesma da bráctea ou branca, creme, e amarelada. Segundo Santos (1977), com exceção da espécie *H. episcopalis*, as brácteas têm hábito perene e a última bráctea pode ser fértil ou estéril. A bráctea inferior frequentemente é sem flores e as demais mostram flores que exsudam uma grande quantidade de néctar, tornando-se atrativas para os pássaros e morcegos (Castro, 1995), sendo estes os principais polinizadores destas plantas

(Berry & Kress, 1991). Os pássaros, roedores e esquilos ajudam a dispersar as sementes quando os frutos ficam maduros (Abalo, 1999).

As helicônias podem ser propagadas, ainda, por divisão de touceiras, por sementes e rizomas (Lorenzi, 2008). A propagação sexuada apresenta várias desvantagens, dentre as principais a dormência de sementes, desuniformidade das plantas e principalmente devido ao período de floração muito demorado, de 3 a 4 anos após a semeadura (Nannetti, 1994).

A propagação comercial das helicônias é predominantemente assexuada, por rizomas. Os rizomas são do tipo simpodial (ramificado), seus órgãos subterrâneos servem como fonte de reservas, nutrientes e água para períodos longos de estiagem ou de baixas temperaturas, assegurando a sobrevivência da espécie (Castro, 1995). No entanto, a divisão por rizomas pode disseminar patógenos (Paiva, 1998), por plantios sucessivos, via rizomas contaminados por bactérias, vírus, nematóides e fungos, como o *Fusarium sp.* (Nathan *et al.*, 1992). Segundo Torres *et al.* (2005) uma das limitações da cultura é a disseminação de doenças por meio de mudas produzidas pela divisão do rizoma da planta.

1.2.2. Ocorrência de fitopatógenos em *Helicônia sp.*

O agronegócio da floricultura movimenta aproximadamente US\$ 60 bilhões anuais no mercado mundial (Batalha, 2007). Apesar da importância da floricultura, os produtores enfrentam problemas devidos a doenças que afetam o mais importante para essa cultura: o visual das plantas (Lins & Coelho, 2004).

Dentre os fitopatógenos que afetam as helicônias, Coelho & Warumby (2002), destacam que as principais espécies de nematóides que afetam são os do gênero *Meloidogyne*, *Helicotylenchus* e *Radopholus*. Em suas pesquisas com flores ornamentais, Assis (2006), constatou a ocorrência de 100% de sintomas de *Meloidoginose* na área de plantio, das espécies *Meloidogyne* foram detectadas *M. incognita*, *M. arenaria* e *M. javanica*. Dentre as bactérias mais importante para as helicônias, destaca-se a *Ralstonia solanacearum* (Coelho & Warumby, 2002; Lins & Coelho, 2004).

Em pesquisas com helicônias, Santos *et al.* (2009) identificaram a ocorrência dos fungos *Cladosporium sp.*, *Colletotrichum gloeosporioides*, e

Curvularia sp. De acordo com Freire (2006), a espécie *Colletotrichum gloeosporioides* é encontrada em helicônias em todo o Brasil, o que faz com que a antracnose seja uma das principais doenças de natureza fúngica de flores tropicais. Além destes, em pesquisas já foram constatadas a ocorrência de *Bipolaris cynodontis* (Santana et al., 2009), *Puccinia heliconiae*, *Rhizoctonia solani*, *Puccinia heliconiae*, *Bipolaris incurvata* e *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Lins & Coelho, 2004).

O fungo *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* é o agente causador da murcha por fusário em *Heliconia* sp, sendo esta uma grave doença das helicônias, com controle, basicamente, pelo uso de cultivares resistente. Todas as estratégias de controle são voltadas para pesquisas com bananeiras (Castro, 2007). O fungo tem quatro raças identificadas, as raças 1, 2 e 4 causam o mal-do-panamá nas bananeiras (*Musa* sp.) a raça 3 é detectada em cultivares selvagens e plantas ornamentais (Moreira, 1999).

Existem duas hipóteses em relação à origem do fungo, a primeira é que surgiu na Ásia e se dispersou para a África e Américas através do transporte de rizomas e/ou plantas infectadas, e a segunda hipótese é a origem em várias regiões e que co-evoluíram independentemente (Castro, 2007). De acordo com Perez-Vicente (2004), por enquanto, a ocorrência mundial do fungo está localizada aos 30° N a 30° S, não havendo ainda registros nas Ilhas do Pacífico Sul, Somália e Mediterrâneo.

O gênero *Fusarium* é caracterizado pelo rápido desenvolvimento, suas colônias fungicas adquirem coloração pálida ou colorida (violeta à púrpura ou do creme à laranja), com micélio aéreo e difuso (Domsch et al., 1980). As duas principais formas de esporos de *Fusarium* são os microconídios (unicelulares e uninucleados) e macroconídios (os mais comuns são multicelulares, mas cada célula tem somente um núcleo). Os núcleos dos macroconídios são descendentes mitóticos de um mesmo núcleo progenitor, sendo assim, idênticos geneticamente (Puhalla, 1981). De acordo com Menezes & Oliveira (1993), os microconídios são ovais a reuniformes e hialinos e os macroconídios fusiformes, falcados e isolados.

Os sintomas de uma planta infectada pelo fusário podem ser observados externa e internamente. Como sintoma externo, ocorre o amarelecimento e seca progressiva das folhas mais velhas para as mais novas, com posterior murcha e

quebra do pecíolo junto ao pseudocaule, observa-se, ainda, um estreitamento de limbo nas folhas mais novas e engrossamento das nervuras secundárias, ocasionando necrose do cartucho e rachadura do feixe das bainhas próximo ao solo. Internamente observam-se pontuações pardo-avermelhadas e escurecimento vascular, principalmente nas laterais do pseudocaule e rizoma (Warumby *et al.*, 2004; Cordeiro *et al.*, 2005), Cordeiro *et al.* (2005) menciona ainda que esses sintomas iniciam de 2 a 5 meses após a infecção.

Conforme Castro (2007), dentre as formas de controle do *Fusarium oxysporum f.sp. cubense* a utilização de espécies ou cultivares resistentes é a medida mais eficiente e econômica para o controle da murcha de fusário. Ribeiro *et al.* (2012) citam algumas formas de controle do fungo, como o uso de defensivos a base de iodo ou calda bordalesa, cuidados com a manipulação de materiais no plantio, incluindo a restrição de pessoas circulando na área e solarização para evitar excessos de umidade. Ainda assim são necessários estudos de maneiras de controle que impedem a disseminação do fungo através do material propagativo infectado.

1.2.3. O potencial fungitóxico de extratos de plantas e o uso sobre o controle de fungos fitopatogênicos

Atualmente, um dos enfoques da agricultura é o controle alternativo de doenças, com o controle biológico e a indução da resistência (Bettiol, 1991). A indução da resistência envolve a ativação de mecanismos de defesa da planta em respostas a agentes bióticos ou abióticos (Hammerschidt & Dann, 1997).

Os mecanismos de resistências, podem ser estruturais, como o acúmulo de fitoalexinas, papila, lignificação e tilose, ou proteínas relacionadas a patogênese (Pascholati & Leite, 1995). A proteção oferecida pelos extratos à planta é capaz de protegê-la contra infecções por patógenos. Estes produtos têm sido usados empiricamente pelos produtores em pequenos plantios (Bettiol, 1991). Segundo Diniz (2006), o uso de extratos podem reduzir a intensidade de doenças em cultivos orgânicos.

Extratos botânicos apresentam em sua composição, propriedades antifúngicas. Na constituição de tecidos e do metabolismo de plantas existem compostos com ação inseticida, analgésica, antiviral, fungicida, entre outros

(Pletsch, 1998), devido a isso as plantas medicinais vem sendo muito estudadas como extrato bruto e óleo essencial (Matos, 1997) por possuírem a característica de serem inofensivos ao homem e ao meio ambiente se tratando de um produto natural, além disso, os custos são menores e muito destes superam produtos sintéticos em sua ação microbiana (Stangarlin *et al.*, 1999). Estudos realizados *in vitro* e *in vivo* demonstram o potencial de extratos botânicos no controle fitopatológico. Para Tagami *et al.* (2009) alguns compostos presentes nos extratos quando aplicados a uma planta podem fornecer defesas, por atividade antimicrobiana e até mesmo pela indução da resistência.

Em estudos realizados “*in vitro*”, Pastro *et al.* (2012) obtiveram total controle do fungo *Phomopsis phaseoli* em sementes de soja com extrato obtido do cravo-da-índia. O mesmo efeito foi observado por Ribeiro (2008) sobre *Aspergillus* e *Penicillium* em sementes de caupi e Rozwalka *et al.* (2008), *C. gloeosporioides* em sementes de goiaba. Paz *et al.* (2011), testaram o efeito da citronela, nim e eucalipto no crescimento micelial do *Corynespora cassiicola* do mamoeiro, com resultados satisfatórios para o óleo de nim. O nim obteve controle também sobre o *Pyricularia oryzae*, e o cravo-da-índia e nim controlaram o crescimento do *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum* *sp. vasinfectum* e *Pyricularia oryzae* em estudo feitos “*in vitro*” por Silva *et al.*, (2012). Em pesquisas, Camatti-Sartori *et al.* (2011), testaram extratos de plantas e obtiveram maior controle do *Fusarium sp* e *Botrytis sp* com extrato de alecrim. Baia *et al.* (2011) conseguiram controlar o crescimento micelial do *Sclerotium rolfsii* com extrato preparado de Cipó Sucuriju. Guimarães *et al.* (2011) avaliando a atividade do óleo essencial de capim-limão observaram alta fungitoxicidade do óleo sobre os fungos fitopatogênicos *Alternaria alternata*, *C. gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum cubense* e *Bipolaris sp.* Tyagi & Malik (2011) observaram alto efeito antimicrobiano do óleo de hortelã-pimenta sobre os fitopatógenos *Penicillium digitatum*, *Aspergillus flavus*, *A. niger* e *Fusarium oxysporum*. Combrinck *et al.* (2011), avaliando o efeito de 2 $\mu\text{L mL}^{-1}$ e 3 $\mu\text{L mL}^{-1}$ do óleo de hortelã-pimenta, observaram inibição completa do crescimento micelial de *P. digitatum* e *C. gloeosporioides*, respectivamente.

Os óleos de plantas são fontes potenciais de compostos antimicrobianos. Comparar resultados de estudos é difícil, pois a composição destes extratos pode

variar muito, conforme a região de plantio, condições climáticas, idade da planta, método de secagem e extração do extrato (Al-Reza *et al.*, 2010).

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Geral

Testar o potencial fungitóxico de extrato de plantas no crescimento micelial e esporulação e a infectividade em rizomas de helicônias por *Fusarium oxysporium f.sp cubense*.

1.3.2. Específicos

1. Coletar plantas de *Helicônia sp.* com sintomas de murcha por fusário e isolar o fungo *Fusarium oxysporium f.sp cubense*;
2. Realizar o teste de patogenicidade de *Fusarium oxysporium f.sp cubense* em cultivares de banana;
3. Comparar as diferentes concentrações dos extratos acético de alho, mastruz e hortelã e dos extratos etanólico de alho, mastruz e hortelã na inibição e esporulação *in vitro* do fungo *Fusarium oxysporium f.sp cubense* no meio de cultivo BDA;
4. Comparar as diferentes concentrações dos extratos acético de alho, mastruz e hortelã e dos extratos etanólico de alho, mastruz e hortelã adicionados ao papel filtro na inibição e esporulação *in vitro* do fungo *Fusarium oxysporium f.sp cubense* e;
5. Avaliar o grau de infecção de *Fusarium oxysporium f.sp cubense* em rizomas de helicônia tratadas com extrato acéticos e etanólicos.

1.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABALO, J. E. Heliconias for ornamental industry. **Acta Horticulturae**, Leuven, v.486, 1999. p.313-315.

ALBUQUERQUE, A. W., ROCHA, E. S., COSTA, J. P. V. FARIAS, A. P., BASTOS, A. L. Produção de helicônia Golden Torch influenciada pela adubação mineral e orgânica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.14, n.10, 2010, p.1052–1058.

ALMEIDA, A.M.R.; FERREIRA, L.P.; YORINORI, J.T.; SILVA, J.F.V.; HENNING, A.A.. 1997. Doenças da soja. In: KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia**, v.2. Doenças de plantas cultivadas. Ceres, São Paulo, 1997. p.642-664.

AL-REZA, S. M.; RAHMAN, A.; AHMED, Y.; KANG, S. C. Inhibition of plant pathogens in vitro and in vivo with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 96, p. 86-92, 2010.

ARRUDA, R. CARVALHO, V. T., ANDRADE, P. C. M., PINTO, M. G. Helicônias como alternativa econômica para comunidades amazônicas. **Acta Amazonica**. Vol 38 (4) 2008, pg 611-616.

ASSIS, T. C. de. Fitonematóides associados a Zingiberales ornamentais em Pernambuco: estimativa do número de amostras para monitoramento, efeito de indutores de resistência e avaliação de mecanismos envolvidos. **Tese (Doutorado em Fitopatologia)** – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE. 84f. 2006.

ATEHORTUA, L. Aves del paraíso, Gingers, **Heliconias**. Santafé de Bogotá, D.C., Colômbia: HortiTecnia Ltda., 1998, 66 p.

BAIA, D. B., CARVALHO, A. C., COSTA, C. A., AGUIAR, R. O., SILVA, I. L. S. S. **Uso de extratos vegetais aquoso in vitro sobre *sclerotium rolfsii* no controle de mancha foliar em antúrio (*Anthurium andraeanum*)**. Anais do 9º Seminário Anual de Iniciação Científica, 19 a 21 de outubro de 2011.

BATALHA, M. O. – **Gestão Agroindustrial** – GEPAI: Grupo de estudos e pesquisas agroindustriais– coordenador Mário Otávio Batalha. – 3.ed – São Paulo: Atlas, 2007.

BERRY, F.; KRESS, W. J. **Heliconia: an identification guide**. 1 ed. Washington: Smithsonian Institution Press, 1991. 334 p.

BETTIOL, W. Controle **Biológico de Doenças de Plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, Documentos, 15. 1991. 388p.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A. C., CARNEIRO, S. M. T. P. G. Doenças do feijoeiro. In: **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Agronomica Ceres. V.2, p 376-339. 1997.

BLANCARD, D., LECOQ, H., PITRAT, M. **Enfermidade das curcubitáceas**. Mundi - Prensa. INRA. p. 228. 1996.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. 3 ed. p. 167, 1976.

CAMATTI-SARTORI, V. MAGRINI, F. E., CRIPPA, L. B., MARCHETT, C., VENTURIN, L., SILVA-REIBEIRO, R. T. Avaliação *in vitro* de extratos vegetais para o controle de fungos patogênicos de flores. **Revista Brasileira de Agroecologia**. 6(2) : 2011. p.117- 122.

CASTRO, C. E. F. de. Helicônia para exportação: aspectos técnicos da produção. Brasília, DF: Embrapa – SPI, 1995. 43 p.

CASTRO, C. E. F. de.; GRAZIANO, T. T. Espécies do gênero Helicônia (Heliconiaceae) no Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 3, n. 2, 1997. p. 15-28.

CASTRO, N. R. Murcha de Fusarium em *Heliconia spp.*: ocorrência, variabilidade e resistência genética em espécies ornamentais cultivadas em Pernambuco, Alagoas e Sergipe. **Tese de doutorado**. Recife. 2007. 77p.

COÊLHO, R. S.; WARUMBY, J. F; B. **Doenças de plantas ornamentais detectadas na Zona da Mata de Pernambuco**, Sebrae, Recife, 2002, 98p.

COMBRINCK, S.; REGNIER, T.; KAMATOU, G. P. P. In vitro activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. **Industrial Crops and Products**, v. 33, p. 344-349, 2011.

CORDEIRO, Z. J.M., MATOS, A. P., KIMATI, H. Doenças da bananeira (*Musa spp.*). **Manual de Fitopatologia. Doenças de plantas cultivadas**, V.2. Piracicaba-SP, 2005. p.99-117.

COSTA, A. S. Características agronômicas e genéticas de helicônias na Zona da Mata de Pernambuco. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2005.

DINIZ, L. P. Avaliação de produtos alternativos para o controle da requeima do tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 2, 2006. p. 171-179.

DOMINGOS, E. G. T.& ANDRADE, M. M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE. 2005. 398p.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. **Compendium of soil fungi**. New York: Academic Press, 1980, 859 p.

FARIAS, A. P. Componentes de produção da H. Golden Torch (*Helicônia psittacorum* x *H. spathorcircinada*) influenciada pela adubação mineral e orgânica. Rio Largo: CECA/UFAL, 2004. **Dissertação Mestrado**. 93p.

FERNANDES, M. C. A., LEITE, E. C. B., MOREIRA, V. E. **Defensivos alternativos: ferramenta para uma agricultura ecológica, não poluente, produtora de alimentos saudáveis**. Niterói: PESAGRO-RIO, 2006. 22p.

FREIRE, F. C. O. Doenças atuais e potenciais das principais frutíferas e flores ornamentais no nordeste. **Fitopatologia Brasileira**, Lavras, v. 31, p. S38-S44, 2006.

GALLO, D. **Manual de entomologia agrícola**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2002. 649p.

GUIMARÃES, A. Oportunidades de negócios na Amazônia: alternativas sustentáveis, 2001. In: Veríssimo, A.; Moreira, A.; Sawyer, D.; Santos, I.; Pinto, L.P.; Capobianco, J.P.R. (Eds). **Biodiversidade na Amazônia Brasileira: avaliação e ações prioritárias para a conservação, uso sustentável e repartição de benefícios**. Instituto Socioambiental, São Paulo. 2001, p 60-78.

GUIMARÃES, L. G. L.; CARDOSO, M. G.; SOUSA, P. E.; ANDRADE, J.; VIEIRA, S. S. Atividades antioxidante e fungitóxica do óleo essencial de capim-limão e do citral. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 464-472, 2011.

HAMMERSCHMIDT, D., DANN, E. K., Induced resistance to diseases. In: RECHCIGL, N. A., RECHCIGL, J. E.(Ed). **Environmentally Safe Approaches to Crop Disease Control**. Boca Raton: CRC - Lewis Publishers, 1997, p.177-199.

HEINZMANN, B. M. Compostos com enxofre. 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. 2001. p.633-650.

KRESS, W.J. **The phylogeny and classification of the Zingiberales**. Annals of the Missouri Botanical Garden. 77:698; 721, 1990.

LAMAS, A. M. **Floricultura tropical: Técnicas de cultivo**. Recife: SEBRAE/PE, 2002. 88p.

LINS, S.R.O. & COELHO, R.S.B. Ocorrência de doenças em plantas ornamentais tropicais no Estado de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, p.332-335. 2004.

LORENZI, H. **Plantas ornamentais do Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. 4ed. Nova Odessa, SP. 2008. 1088p.

MATOS, F. J. A. **As plantas da farmácia viva**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará. 1997. v.1. 57p.

MENEZES, M.; OLIVEIRA, S. M. A. **Fungos fitopatogênicos**. Recife: Imprensa Universitária da UFRPE. 1993. 275 p.

MOREIRA, S. R. **Banana - teoria e prática de cultivo**. São Paulo. Brasil. 2 ed. 1999. Fundação Cargill. 1999. [CD-ROM]

MOSCA, J. L., **Helicônia: descrição, colheita e pós-colheita** - Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2005. 32 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 91).

NANNETTI D.C. Utilização da cultura de tecidos vegetais na micropropagação de *Heliconia sp.* (**Dissertação de Mestrado**). Lavras: UFLA. 106p. 1994.

NATHAN M.J.; GOH C.J.; KUMAR P.P. In vitro propagation of *Heliconia psittacorum* by bud culture. **HortScience**. 27: 450-452, 1992.

PAIVA, W.O. de. **Cultura de helicônias**. Fortaleza: Embrapa-CNPAT. 20 p. 1998. (Embrapa-CNPAT. Circular Técnica, 2).

PASCHOLATI, S. F. LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: FILHO, A. B., KIMATI, H., AMORIN, L. (Ed). **Manual de Fitopatologia** - Princípios e Conceitos. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1995. v.1. cap. 22, p. 417-454.

PASTRO, D. C., PASCUALI, L. C., SANDRI, D. O., ZELA, S. P. SILVA, F. S. **Diagnóstico de extratos vegetais com potencial para o controle fúngico**. ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.8, N.14; 2012, p. 389

PAZ, D. S., RODRIGUES, A. A. C., DINIZ, N. B., BRANDAO, L. C. CAMPOS, J. R. M.N. Ação inibitória de extratos vegetais e óleo de nim sobre *Corynespora cassicola*, agente causal da mancha-alvo do mamoeiro. **Cadernos de Agroecologia** – ISSN 2236-7934 – Vol 6, No. 2, Dez 2011.

PÉREZ-VICENTE, L. **Fusarium wilt (Panama disease) of bananas: an updating review of the current knowledge on the disease and its causal agent**. In: REUNIÓN INTERNACIONAL ACORBAT, 16., 2004. p.1-15.

PITTA, G.P.B. **Aspectos fitossanitários de plantas ornamentais**. Em: Simpósio brasileiro de floricultura ornamental. 1995. Maringá. Simpósio... Maringá, 1999. pp.128-160.

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

PUHALLA, J. E. Genetic considerations of the genus *Fusarium*. In: Nelson, P. E.; Toussoun, T.A.; Cook, R. J. (Ed) **Fusarium: diseases, biology, and taxonomy**. Pennsylvania: Pennsylvania State University, p.291-305, 1981.

RIBEIRO, V.V. Efeitos de fungicida e produtos naturais sobre o desenvolvimento de *Fusarium oxysporum f.sp. tracheiphilum* em sementes de caupi. **Tese de Doutorado**, Universidade Federal de Paraíba, Areia, 2008.

RIBEIRO, W. S.; BARBOSA, J. A.; COSTA, L. C. **Helicônias** – Brasília: Editora Kiron, 2012. 134 p.

ROSALES, F. E.; RIVEROS, A. S., BALCAZAR, S. **Fitoprotección y su importancia en el cultivo de las musáceas**. In: Anais, 5o Simposio Brasileiro sobre bananicultura, Paracatu, MG. p. 173-176. 2003.

ROZWALKA, L. C.; LIMA, M.L.R.Z.C.; MIO, L.L.M.; NAKASHIMA, T. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella ingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 301-307, 2008.

SANTANA, C. V. S., SANTOS, A. S., ALMEIDA, A. C., NASCIMENTO, A. R. P. FRANCA, F. S. Mancha de bipolaris em helicônias (*heliconia spp.*) no submédio são francisco. **Revista Verde** (Mossoró – RN – Brasil) v.4, n.2, 2009. p. 05- 08.

SANTOS, E. Revisão das espécies do gênero *Heliconia* L. espontâneas na Região Fluminense. **Dissertação (Mestrado em Botânica)**. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 1977. 116 f.

SANTOS, A. S. SANTANA, C.V. da S., ALMEIDA, A. C. de, NASCIMENTO, A. R. P., FRANÇA, F. S. Fungos associados a manchas foliares em *Heliconia psittacorum* cv. Golden Torch, no submédio São Francisco. **Revista Verde** (Mossoró – RN – Brasil) v.4, n.4, 2009. p. 01 – 04

SILVA, D. S. Diversidade genética de isolados de *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* em helicônia utilizando ARDRA e RAPD. **Dissertação de mestrado**. 2009. 71p.

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** (Mossoró – RN – Brasil) v.7, n.1, 2012. p. 80 – 86.

SOBRINHO, C. C. M. Diagnostico fitossanitário e avaliação de nim no controle de algumas praças de *Heliconia spp.* No litoral Sul da Bahia. Ilheus, BA: UESC. **Dissertação de Mestrado**. 2008. 96p.

STANGARLIN, J.R., SCHWAN-STRADA, K. R. F. CRUZ, M. E. S., NOZAKI, M. H. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biociência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 11, p. 16-21, 1999.

TAGAMI, O. K.; GASPARIN, M. D. G.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; TOLENTINO JÚNIOR, J. B.; MORAES, L. M.; STANGARLIN, J. R. Fungitoxidade de *Bidens pilosa*, *Thymus vulgaris*, *Lippia alba* e

Rosmarinus officinalis no desenvolvimento in vitro de fungos fitopatogênicos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 285-294, 2009.

TORRES, A. C., DUVAL, F. G., RIBEIRO, D. G., SANTOS, M. D. M. Produção de Mudas de Heliconiarostrata Livres de Doenças via Cultura de Embriões. Brasília: **Embrapa Hortaliças**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 06. 2005, 12p.

TYAGI, A. K.; MALIK, A. Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. **Food Control**, v. 22, p. 1707-1714, 2011.

VENTUROSOSO, L. R. Extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos à soja. **Dissertação de Mestrado**. Dourados, 98p. 2009.

WARUMBY, J. F.; COELHO, R. S. B.; LINS, S. R. O. **Principais doenças e pragas em flores tropicais no estado de Pernambuco**, Recife: SEBRAE, 2004. 98 p.

CAPÍTULO 2

Avaliação da atividade antifúngica de extratos vegetais no controle in vitro do *Fusarium oxysporium f.sp. cubense*

RESUMO

Os extratos, acético e alcoólico, foram usados homogeneizado ao meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar) e em papel filtro, para testar o crescimento micelial e esporulação do fungo *Fusarium oxysporium f.sp. cubense*, isolado de plantas de *Heliconia* sp. Para o preparo dos extratos foram utilizados bulbos de alho (*Allium sativum* L.), folhas de mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.) e hortelã (*Mentha piperita* L.), como materiais vegetais. Os extratos foram utilizados nas concentrações de 0%, 5%, 10%, 15% e 100%. No primeiro experimento, os extratos diluídos foram homogeneizados ao meio BDA. No segundo experimento, utilizou-se papel filtro, posicionados sobre a tampa da placa de Petri, umedecidos com 8 mL do extrato diluído. As análises de crescimento micelial iniciaram 24 horas após a repicagem do fungo, com medições da colônia fúngica em duas direções opostas. No oitavo dia foi avaliada a esporulação do fungo, com quatro leituras de gota por tratamento, em câmara de Neubauer e microscópio óptico. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, comparando as médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os extratos acéticos obtiveram controle significativo do fungo nos dois experimentos. Entre os extratos alcoólicos, no primeiro experimento, todos os tratamentos inibiram o crescimento micelial e esporulação do fungo e apenas o tratamento de 100% de alho controlou o fungo. No segundo experimento, os tratamentos acéticos de hortelã controlaram o fungo em todas as concentrações. Os tratamentos alcoólicos inibiram o fungo em todos os tratamentos, com controle no tratamento de mastruz 100%.

Palavras-chave: *Heliconia* sp., *Fusarium oxysporium f.sp. cubense*, controle *in vitro*, extrato de vegetais.

ABSTRACT

The alcoholic and acetic extracts were homogenized into to PDA culture (potato, dextrose and agar) and on filter paper to test the mycelial growth and sporulation of *Fusarium oxysporium f.sp. cubense* funge isolated from Heliconia's plants. For the preparation of the extracts were used garlic's bulbs (*Allium sativum* L.), and mastruz's leaf (*Chenopodium ambrosioides* L.) and mint (*Mentha piperita* L.), as vegetable materials. The extracts were used at concentrations of 0%, 5%, 10%, 15% and 100%. In the first experiment, the extracts were diluted homogenized in the PDA media. In the second experiment, we used filter paper placed on the cap of the Petri dish, moistened with 8 ml of the diluted extract. The analyzes of mycelial growth started 24 hours after the fungal inoculation, with measuring of fungal colony in two opposite directions. On the eighth day was evaluated the fungal sporulation, four readings left of drop per treatment, in a Neubauer chamber and optical microscope. Data were subjected to analysis of variance by F test, comparing the means by Tukey test at 5% probability. The acetic extracts had significant control of the fungus in the two experiments. Between the alcoholic extracts in the first experiment all treatments inhibited the mycelial growth and sporulation and only treatment 100% garlic's bulbs controlled the fungus. In the second experiment, acetic mint treatments controlled the fungus at all concentrations. The alcohol treatment inhibited the fungus in all treatments with control treatment mastruz 100%.

Keywords: *Heliconia sp.*, *Fusarium oxysporium f.sp. cubense*, control in vitro, plant extract.

2.1. INTRODUÇÃO

Os problemas ocasionados pelo uso de fungicidas sintéticos usados na agricultura têm elevado à busca de um controle alternativo que seja seguro, viável e eficiente no controle de fungos fitopatogênicos (Silva *et al.*, 2010). O uso de extratos de plantas já vem sendo muito estudados para testar a atividade antimicrobiana destes em organismos fitopatogênicos.

O poder antifúngico de extrato de plantas já foi comprovado por vários autores, porém observa-se que não existe uma metodologia padrão para testar *in vitro* essa atividade antifúngica (Sarmiento-Brum *et al.*, 2013), contudo é indispensável a adoção de uma metodologia que mais se aproxime de condições *in vivo* e aplicável a cultura.

Um dos métodos estudados hoje para o controle fúngico “*in vitro*” é o uso do extrato homogeneizado ao meio de cultura. Desta forma, além do fungo encontrar todos os nutrientes essenciais para o seu desenvolvimento *in vitro*, encontrará, também, compostos oriundo dos extratos e, por sua ação antifúngica, é possível avaliar o crescimento micelial do fungo com o meio de cultura tóxico. Outra forma de testar o crescimento fungico *in vitro* é utilizando papel filtro com o extrato para fornecer umidade dentro da placa de Petri com as propriedades liberadas pelo extrato testado. De acordo com Lee *et al.* (2008), utilizando esta metodologia é possível avaliar a fungitoxidade dos compostos dos extratos que são volatilizados.

Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo comparar as diferentes concentrações dos extratos acéticos e etanólicos de alho, mastruz e hortelã na inibição micelal e esporulação *in vitro* do fungo *Fusarium oxysporium f.sp. cubense* através das metodologia do extrato homogeneizado ao meio de cultivo e adicionados ao papel filtro.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1. Coleta e localização da área

O município de Humaitá está localizado às margens esquerda do rio Madeira, no sul do Estado do Amazonas, afluente da margem direita do Rio Amazonas, distante cerca de 675 km da capital, Manaus, pela Rodovia BR-319. Limita-se com os municípios de Manicoré (norte), Tapauá (leste), Canutama (oeste) e com o Estado de Rondônia, com aproximadamente 200 km de distância da capital, Porto Velho. O município de Humaitá está localizado nas coordenadas geográficas 7^o30'22"S. e 63^o01'15"W.

Para a obtenção de isolados fúngicos, foram coletadas plantas de *Helicônia sp*, em áreas plantadas e jardins, incluindo folhas, inflorescências e rizomas, com sintomas de doenças fungicas dentro do município de Humaitá e nas comunidades ribeirinhas de São Miguel, Paraíso Grande e Paraísoinho.

As plantas foram foto-documentadas e levadas ao laboratório de Fitossanidade da Universidade Federal do Amazonas, Instituto de Educação, Agricultura e Ambiente, mantidas sob refrigeração a 2°C até o momento dos isolamentos.

2.2.2. Isolamento e manutenção dos isolados

As plantas passaram por uma pré-lavagem em água corrente para retirada de resíduos do campo. Em seguida foram feitos cortes de aproximadamente cinco milímetros na área de transição do sintoma para o isolamento. Os discos passaram por um tratamento de lavagem em água destilada e hipoclorito 2% na proporção 3:1.

O isolamento foi feito em meio de cultura BDA (batata-dextrose-água), utilizando os discos de amostras posicionados em quatro pontos perpendiculares na placa de Petri, com duas repetições.

Durante sete dias as placas permaneceram sob condições de fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25°C±2°C para propiciar o crescimento micelial do fungo nas placas de Petri. Após o período de sete dias, as placas foram mantidas sob refrigeração de 2°C a 5°C.

2.2.3. Teste de Patogenicidade do fungo *Fusarium oxysporium f.sp. cubense*.

Para o teste de patogenicidade foram utilizadas bananas das cultivares prata, maçã e pacovan para a inoculação do fungo e verificação da infecção. As bananas foram previamente lavadas em água corrente, tratadas com hipoclorito 2% e passadas por uma lavagem em água destilada.

O fungo foi inoculado em ambas as extremidades das bananas, conforme a infestação do fungo. As bananas foram mantidas em bandejas sob condições de câmara úmida por 10 dias e temperatura de $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$. As estruturas desenvolvidas foram isoladas em placas de Petri contendo meio de cultura BDA e após sete dias foram visualizadas as suas estruturas fungicas.

2.2.4. Preparo dos extratos

Foram utilizados os materiais na proporção de 100g do material vegetal, 250mL de água destilada esterilizada (ADE) e 250mL de álcool etanóico P.A, triturados em liquidificador para preparo do extrato alcoólico. Para o preparo do extrato acético foram utilizados 100g do material vegetal triturados em liquidificador contendo 250mL de água destilada esterilizada (ADE) e 250mL de ácido acético. O material vegetal utilizado nos extratos foram folhas frescas de mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.) e hortelã (*Mentha piperita* L.), e bulbos de alho (*Allium sativum* L.), previamente lavados em água destilada, e triturados com os reagentes por aproximadamente 1 minuto.

Os extratos prontos foram colocados em um recipiente de vidro vedado, por um período 96 horas no escuro, para realização do processo de extração por infusão dos compostos. Após este período, foi feita uma filtragem em papel filtro, permanecendo abertos por 72 horas para favorecimento da evaporação dos reagentes. Os extratos obtidos foram armazenados em refrigerador a 4°C até o uso.

2.2.5. Experimento 1. Extrato homogeneizado ao meio BDA

Os extratos foram expostos a radiação UV por 30 minutos, em seguida foram diluídos em 5%, 10%, 15% e 100% em meio BDA 95%, 90%, 85% e 0% misturando-os a concentração final de 100%. Na concentração 100%, foram

utilizados 0,5mL do extrato depositado sobre o meio BDA solidificado. Para a testemunha, utilizou-se apenas o meio de cultura BDA para o crescimento fungico.

O meio de cultura, juntamente com o extrato homogeneizado, foi vertido em placas de Petri e, após a sua solidificação, pequenos discos miceliais foram repicados para o centro das placas. Após a vedação das placas, as mesmas permaneceram sob fotoperíodo de 12 horas e temperatura de $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$, por oito dias, com a primeira análise iniciada após 24 horas da repicagem.

As análises de crescimento micelial foram feitas diariamente com o auxílio de um escalímetro para medir o desenvolvimento da colônia fungica, em dois sentidos opostos na placa.

A avaliação de esporulação do fungo foi feita após oito dias da montagem do experimento. Para a avaliação da esporulação foram adicionadas em cada placa 20 mL de ADE (água destilada e esterilizada) e para remoção micelial foi utilizado um pincel de cerdas macias, com 50 passadas. Em seguida, esta solução foi filtrada em duas camadas de gaze estéreis, esta solução foi determinada em hemacitômetro em câmara de Neubauer e microscópio óptico, obtendo-se quatro leituras para cada tratamento.

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, comparando as médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.2.6. Experimento 2. Extrato no papel filtro

Os extratos foram expostos a radiação UV por 30 minutos, em seguida foram diluídos nas concentrações de 5%, 10%, 15% e 100% com água destilada e esterilizada.

Os discos de papel filtro foram posicionados sobre a tampa da placa de Petri e na placa de Petri, o meio de cultura BDA. No papel filtro, foram adicionados 8mL do extrato diluído nas devidas concentrações de tratamento e após a repicagem do fungo nas placas, as mesmas foram vedadas e mantidas a temperatura de $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, por 8 dias (Figura 1). As análises foram iniciadas 24 horas após a repicagem, com medições em dois sentidos opostos da placa com auxílio de um paquímetro. Para as testemunhas,

foram utilizados discos de papel filtro umedecido com água destilada e esterilizada, e seco.

O experimento foi conduzido em DIC, com 3 repetições. Foram avaliados o crescimento micelial e a esporulação do fungo por tratamento. Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, e as médias obtidas foram submetidas ao teste de Tukey a 5%, com auxílio do programa SISVAR, versão 5.3.



FIGURA 1. Etapas da montagem do experimento. A) Diluição dos extratos; B) Uso das diluições para umedecimento do papel filtro; C) Placas vedadas.

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1. Teste de Patogenicidade do fungo *Fusarium oxysporium f.sp. cubense*.

O fungo *Fusarium oxysporium f.sp. cubense* apresentou sintomas típicos de infecção nas cultivares de banana. Foi observado crescimento micelial do fungo no local da inoculação (Figura 2) e após 15 dias de inoculação houve a necrose total em todas as amostras analisadas. O resultado do teste comprovou a ocorrência do agente causador da muita. O fungo repicado apresentou colônia colorida, variando da cor creme à laranja, conforme Domsch *et al.*, (1980).

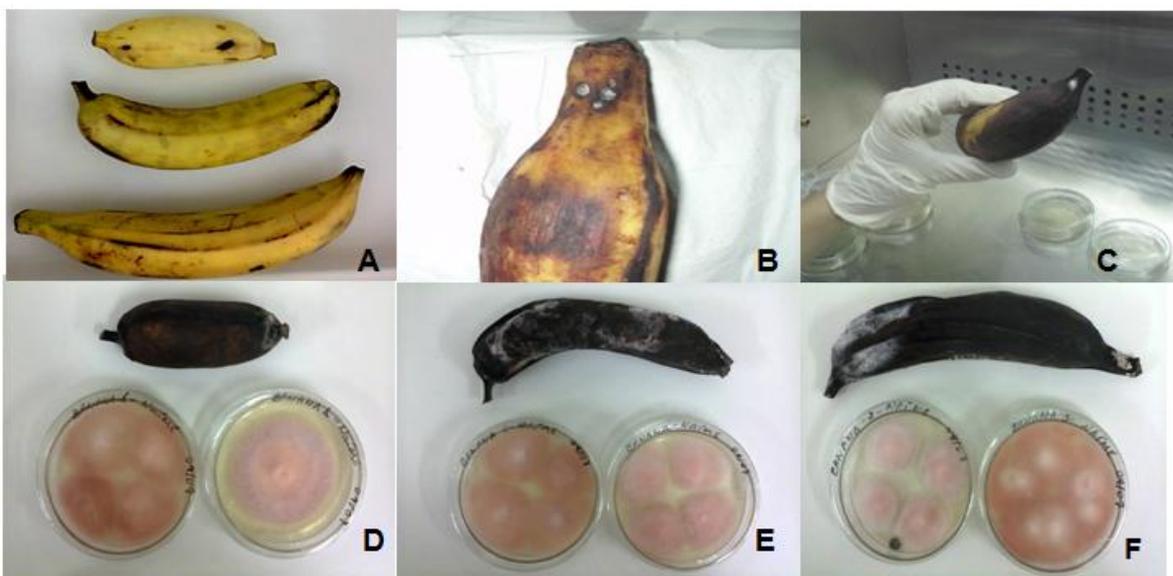


FIGURA 2. Teste de patogenicidade do *Fusarium oxysporium f.sp. cubense*. A) Testemunha; B) Após 48 horas em câmara úmida; C) 7 dias após a inoculação do fungo e; D), E), F) 15 dias após a inoculação do fungo.

2.3.2. Experimento 1. Extrato homogeneizado ao meio BDA

Os extratos preparados com ácido acético controlaram significativamente o crescimento micelial e a esporulação do fungo em comparação com os extratos alcoólicos, a inibição do crescimento micelial e esporulação foram de 100% em todos os tratamentos acéticos (Figura 3).

Entre os extratos alcoólicos, através da metodologia do extrato incorporado ao meio fundente, os melhores resultados para o controle *in vitro* do *Fusarium oxysporium f.sp. cubense* foi do extrato de alho a 100% controlando

totalmente o crescimento fungico. Na concentração de 15% obteve-se 80,62% de controle do crescimento micelial.

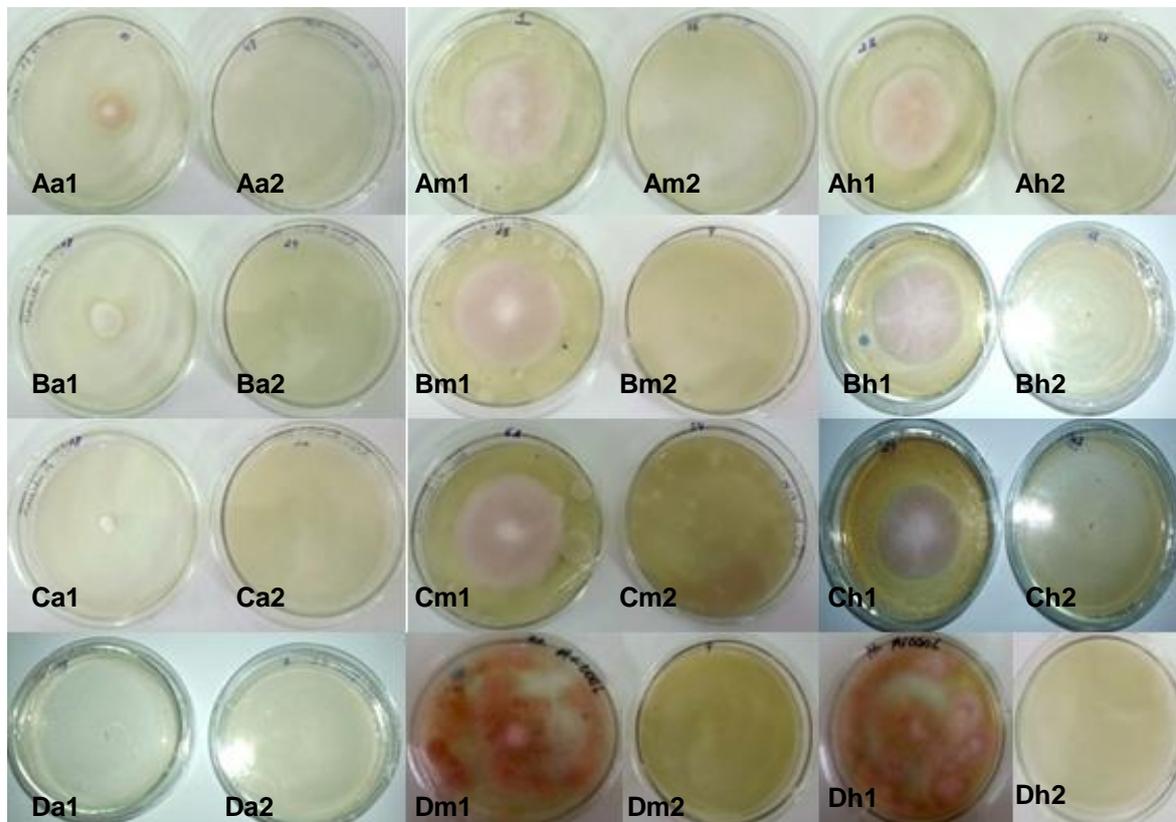


FIGURA 3. Crescimento micelial do fungo *Fusarium oxysporium f.sp. cubense*. A) Concentração de 5%, B) Concentração de 10%, C) Concentração de 15%, D) Concentração de 100%. a) Tratamentos de alho, m) tratamentos de mastruz, h) tratamentos de hortelã. 1) Tratamento alcoólico. 2) Tratamento acético.

Entre os tratamentos alcoólicos, o extrato de alho mostrou-se o mais eficiente no controle do crescimento micelial do fungo, porém não controlou a esporulação, houve apenas inibição (Tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos por Ribeiro & Bedendo (1999).

Santos *et al.* (2010) observaram o efeito do extrato de alho no crescimento micelial do fungo *Aspergillus niger* e verificaram uma redução significativa no seu desenvolvimento. Camatti-Sartori *et al.* (2011) em pesquisas com extrato de plantas obtiveram o menor efeito inibitório entre os tratamentos para o extrato acético e alcoólico de alho no crescimento de *Botrytis sp.*

Os extratos de hortelã e mastruz exerceram pouca inibição sobre o crescimento micelial e esporulação. Baia *et al.* (2011) testaram os extratos aquosos de mastruz e hortelã no controle *in vitro* do *Sclerotium rolfsii* isolado de

antúrio e obtiveram resultados semelhantes, apenas inibição no crescimento micelial do fungo, mas sem grande significância.

TABELA 1. Crescimento micelial (CM) e esporulação (E) do fungo *Fusarium oxysporium f.sp. cubense*.

(%)	Material vegetal	Extrato acético		Extrato Etanólico	
		CM (cm)	E (un)	CM (cm)	E (un)
5	Alho	0,28aA	0	3,02cB	223
	Hortelã	0,3abA	0	5,20eb	840
	Mastruz	0,25aA	0	5,30eb	193
10	Alho	0,22aA	0	2,23cb	74
	Hortelã	0,32bA	0	5,95fB	435
	Mastruz	0,23aA	0	5,73efB	271
15	Alho	0,22aA	0	1,75bB	108
	Hortelã	0,34abA	0	5,02eB	218
	Mastruz	0,23aA	0	5,75efB	253
100	Alho	0,23aA	0	0,35aA	0
	Hortelã	0,33abA	0	*	159
	Mastruz	0,25aA	0	*	76
0	Testemunha	6,1c	915	6,08g	1001
CV(%)		8,43	-	6,09	-
DMS: 0,158					
Erro Padrão: 0,045					

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas (colunas) e maiúsculas (linhas) não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. *Crescimento micelial desordenado do fungo na placa de Petri.

Camatti-Sartori et al. (2011), testaram os extrato acético e alcoólico em *Fusarium sp.* e *Botrytis sp.*, e observaram que o extrato de menta controlou em 40% o crescimento micelial do *Fusarium*. Sobre o *Botrytis sp.*, o uso do extrato acético de alho não foi eficiente.

Os tratamentos de extratos acéticos controlaram em 100% a esporulação em todas as concentrações. De acordo com Souza (2010), o controle ou redução da esporulação também pode estar relacionada à atividades exercida pelos compostos secundários presente dos extratos e por seu principio tóxico.

Em comparação com a testemunha, todos os tratamentos alcoólicos controlaram a esporulação do *Fusarium oxysporium f.sp. cubense*. Os tratamentos de hotelã 100% e mastruz 100% obtiveram elevado crescimento micelial, porém a esporulação foi menor que nos outros tratamentos. Segundo

Stangarlin *et al.* (1999), as condições que favorecem o crescimento fungico nem sempre são as mesmas para esporulação.

2.3.3. Experimento 2. Extrato no papel filtro

Os extratos acéticos obtiveram maior controle no crescimento micelial do *Fusarium oxysporium f.sp. cubense*. Houve inibição do crescimento micelial em todos os tratamentos acético, com controle do crescimento micelial e esporulação nos tratamentos de hortelã em todas as concentrações avaliadas. Houve controle, também nas concentrações a partir de 10% em alho e 5% em mastruz.

O extrato alcoólico controlou apenas no tratamento mastruz 100% (Figura 4). Monteiro *et al.* (2012) testaram o extrato de mastruz em *Colletotrichum musae* obtendo efeito fungitóxico ao fungo na concentração de 20%.

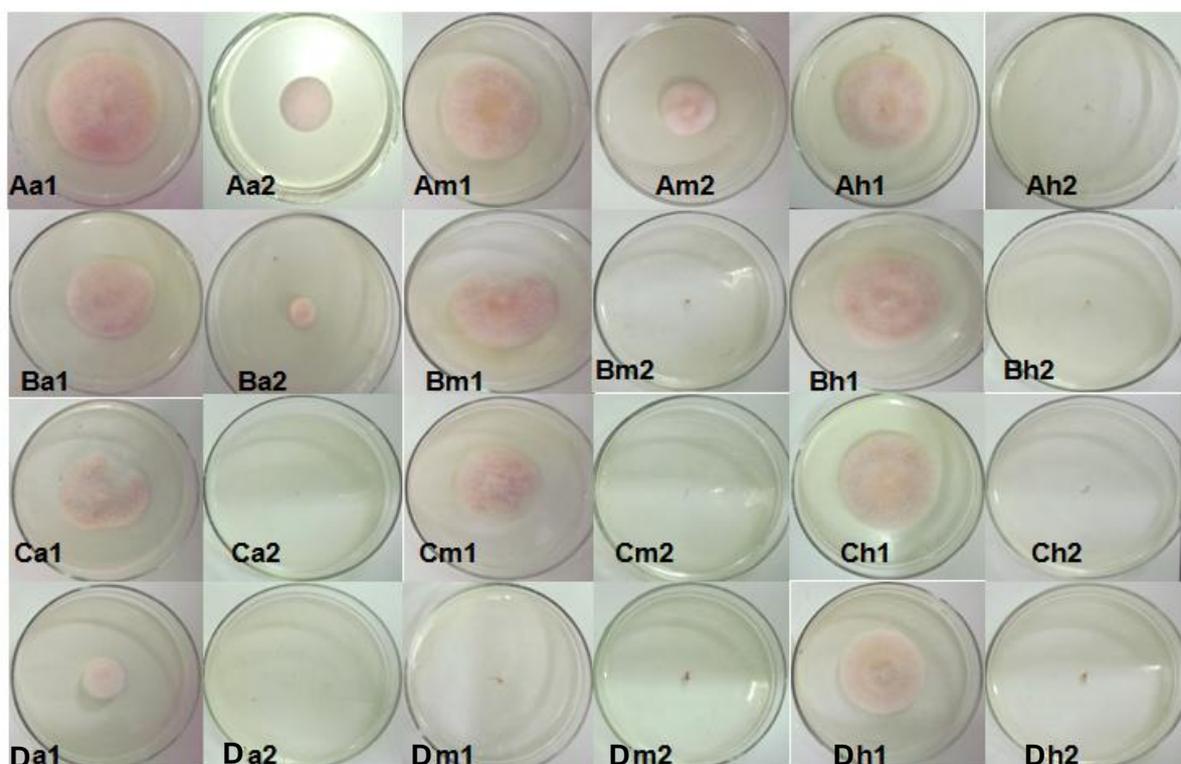


FIGURA 4. Crescimento micelial do fungo *Fusarium oxysporium f.sp. cubense*. A) Concentração de 5%, B) Concentração de 10%, C) Concentração de 15%, D) Concentração de 100%. a) Tratamentos de alho m) tratamentos de mastruz, h) tratamentos de hortelã. 1) Tratamento alcoólico. 2) Tratamento acético.

A metodologia do uso do extrato em papel filtro em testes *in vitro* ainda é pouco utilizada, o que dificulta a comparação entre resultados. Tyagi & Malik (2011) avaliando a fungitoxicidade do óleo essencial de eucalipto observaram que o

efeito volátil, no método do papel filtro, apresentou uma zona de inibição maior que o óleo no método de difusão em ágar. Soyly *et al.* (2010) avaliaram o efeito volátil e de contato dos óleos de orégano, lavanda e alecrim sobre *Botrytis cinerea*, e observaram que o efeito volátil foi mais eficiente na inibição do crescimento micelial do patógeno.

Neste experimento observou-se, também, que o uso do papel filtro nas testemunhas influenciou o crescimento micelial (Tabela 2). Houve inibição na esporulação em todos os tratamentos etanólicos. Nos tratamentos acéticos, a esporulação só não foi controlada nos tratamentos de alho 5% e 10%, onde houve crescimento micelial. Em estudos com extrato aquoso de alho, Morais (2004) observou o controle do *F. oxysporum* na concentração de 20% aplicado. Lorenzi & Matos (2002) relataram que o alho possui ação bactericida e fungicida devido possuir na constituição química de seus compostos a alicina e inulina, o que a confere como uma planta com alto potencial de controle.

TABELA 2. Crescimento micelial (CM) e esporulação (E) do fungo *Fusarium oxysporum f.sp. cubense*.

(%)	Material vegetal	Extrato Etanólico		Extrato Acético	
		CM	E	CM	E
5	Alho	4,9e	212	2,8dA	114
	Hortelã	4,5d	319	0,53a	0
	Mastruz	4,85de	231	0,59ab	0
10	Alho	3,65c	386	1,18c	125
	Hortelã	4,35d	353	0,62b	0
	Mastruz	4,4d	170	0,6b	0
15	Alho	3,45c	338	0,62b	0
	Hortelã	3,4c	349	0,55ab	0
	Mastruz	3,68c	185	0,5a	0
100	Alho	1,6b	36	0,6b	0
	Hortelã	4,7de	224	0,57ab	0
	Mastruz	0,57a	31	0,62b	0
0	Testemunha Úmida	5,25f	330	5,25f	330
0	Testemunha Seca	4,23d	429	4,23e	429
CV(%)		3,47		8,53	

DMS: 0,19

Erro Padrão: 0,046

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas (colunas) e maiúsculas (linhas) não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

2.4. CONCLUSÕES

1. O teste de patogenicidade comprovou a ocorrência do *Fusarium oxysporium f.sp. cubense* em helicônia.
2. Os extratos acéticos controlaram significativamente o *Fusarium oxysporium f.sp. cubense* nos dois experimentos.
3. O uso dos extratos em BDA foi mais eficiente para a inibição do crescimento micelial nos tratamento de alho, controlando na concentração de 100% e inibindo em 80,62% na concentração 15%. No papel filtro, o extrato acético de hortelã controlou em todas as concentrações, seguido de mastruz a partir de 10% e alho a partir de 15%.
4. A esporulação foi inibida em todos os tratamentos com ácido acético no primeiro experimento. No segundo experimento o controle só não foi efetivo nos tratamentos alho 5% e 10%. Entre os tratamentos alcoólicos apenas o matruz a 100%, no primeiro experimento, inibiu a esporulação.

2.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAIA, D. B., CARVALHO, A. C., COSTA, C. A., AGUIAR, R. O., SILVA, I. L. S. S. **Uso de extratos vegetais aquoso in vitro sobre *Sclerotium rolfsii* no controle de mancha foliar em antúrio (*Anthurium andraeanum*)**. Anais do 9º Seminário Anual de Iniciação Científica, 19 a 21 de outubro de 2011.

CAMATTI-SARTORI, V. MAGRINI, F. E., CRIPPA, L. B., MARCHETT, C., VENTURIN, L., SILVA-REIBEIRO, R. T. Avaliação *in vitro* de extratos vegetais para o controle de fungos patogênicos de flores. **Revista Brasileira de Agroecologia**. 6(2) : 2011. p.117- 122.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. **Compendium of soil fungi**. New York: Academic Press, 1980, 859 p.

LEE, Y.; KIM, J.; SHIN, S.; LEE, S.; PARK, II. Antifungal activity of Myrtaceae essential oils and their components against three phytopathogenic fungi. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 23, p. 23-28, jan. 2008.

LORENZI, H & MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa, SP. Instituto Plantarum, 2002. 512p.

MONTEIRO, A. N. L.; MATOS, P. L.; SOUZA, F. S.; GOES, H. T. P.; NASCIMENTO, J. F. Efeito inibitório do extrato de mastruz (*Chenopodium ambrosioides*) sobre *Colletotrichum musae*. **Tropical Plant Pathology** 38 (Suplemento), agosto 2012. 45º Congresso Brasileiro de Fitopatologia - Manaus, AM.

MORAIS, M. S. **Efeito de dois extratos sobre o desenvolvimento de *Fusarium oxysporum* e da incidência da murcha em feijão vagem**. 2004. 72p.

RIBEIRO, L. F.; BEDENDO, I. P. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* - Agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. **Scientia Agricola**. vol.56 n.4 s.0 Piracicaba 1999.

SANTOS, M. B.; SANTOS, C. Y.; ALMEIDA, M. A.; SANTOS, C. R. S.; SANT'ANNA, H. L. S.; SANTOS, O. S. N.; SILVA, F.; MARTINS, G. N. Efeito inibitório *in vitro* de extrato vegetal de *Allium sativum* sobre *Aspergillus niger* Tiegh. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 1, p. 13-17, 2010.

SARMENTO-BRUM, R. B. C., SANTOS, G. R., CASTRO, H. G., GONÇALVES, C. G., CARDON, C. H., LEÃO, E. U., SARMENTO, R. A. avaliação *in vitro* de diferentes métodos de análises de fungitoxicidade de óleos essenciais. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 29, n. 3, 2013. p. 623-626.

SILVA, M. B.; MORANDI, M. A. B.; PAULA JÚNIOR, T. J.; VENZON, M.; FONSECA, M. C. M. Uso de princípios bioativos de plantas no controle de

fitopatógenos e pragas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 31, n. 255, 2010. p. 70-77.

SOUZA, L. S. S. Extratos aquosos de alho (*Allium sativum* L.) e sisal (*Agave sisalana* Perrine) no controle de *Aspergillus niger* e da podridão vermelha do sisal. **Dissertação**. Cruz das Almas, 2010. 91p.

SOYLU, E. M.; KURT, S.; SOYLU, S. In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, 143, p. 183-189, ago. 2010.

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

TYAGI, A. K.; MALIK, A. Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. **Food Control**, v. 22, p. 1707-1714, 2011.

CAPÍTULO 3

Uso de extrato de plantas no tratamento de rizomas de *Heliconia rostrata* Ruiz & Pav para testar o controle do *Fusarium oxysporium* f.sp. *cubense*

RESUMO

Os extratos, acético e alcoólico, foram testados em rizomas de helicônia da espécie *Heliconia rostrata* Ruiz & Pav, utilizando bulbos de alho (*Allium sativum* L.), folhas de mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.) e hortelã (*Mentha piperita* L.), como materiais vegetais. Os rizomas foram tratados com hipoclorito de sódio a 2% e água destilada, em seguida foram cortados em pedaços de 1 a 1,5 cm. Os extratos foram diluídos com água destilada e esterilizada nas concentrações de 0%, 5%, 10%, 15% e 100%. Os rizomas foram mergulhados por 3 minutos em cada tratamento e colocados em placas de Petri com papel filtro umedecidos, em seguida o fungo *Fusarium oxysporium* f.sp. *cubense* foi inoculado em dois pontos do rizoma. As placas foram mantidas por 8 dias em bandejas e câmara úmida, sob regime de fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25°C±2°C. Foram utilizadas notas para determinar a intensidade da infecção pelo crescimento micelial sobre as amostras: 0 - 100% de controle, 1 - 80% de controle, 2 - 60% de controle, 3 - 40% de controle, 4 - 20% de controle e 5 - 0% de controle. Os resultados mostraram maior controle para os extratos preparados com ácido acético. Os extrato acéticos de 10% e 100% de mastruz obtiveram o controle de 100% do fungo. Entre os tratamentos com extrato alcoólico, os de 5% hortelã e 100% mastruz, obtiveram os melhores resultados, controlando em 80% o crescimento micelial do fungo. Os tratamentos de alho obtiveram notas satisfatórias no controle micelial do fungo.

Palavras-chave: *Heliconia* sp., *Fusarium oxysporium* f.sp. *cubense*, controle alternativo, rizoma.

ABSTRACT

The extracts, alcohol and acetic, were tested in rhizomes of *Heliconia* of the specie *Heliconia rostrata* Ruiz & Pav, using garlic bulbs (*Allium sativum* L.) mastruz leaves (*Chenopodium ambrosioides* L.) and mint (*Mentha piperita* L.), as vegetable materials. The rhizomes were treated with sodium hypochlorite at 2% and distilled water were then cut into pieces 1 to 1.5 cm. The extracts were diluted with sterile and distilled water in concentrations of 0%, 5%, 10%, 15% and 100%. The rhizomes were dipped to 3 minutes in each treatment and placed in Petri dishes with moistened filter paper, and then *Fusarium oxysporium f.sp. cubense* fungus was inoculated on two points of the rhizome. The plates were maintained for 8 days in trays and wet chamber, under a photography period conditions of 12 hours and 25°C±2°C temperature. Notes were used to determine the intensity of mycelial growth infection on the samples 0 - 100% control 1 - 80% Control 2 - 60% Control 3 - 40% Control 4 - 20% control to 5 - 0% of control. The results showed the greater control for the extracts prepared with acetic acid. The acetic extract 10% and 100% by mastruz had 100% control of the fungus. Among the treatments with alcoholic extract, the mint of 5% and 100% mastruz, obtained the best results, controlling 80% mycelial growth of the fungus. The garlic treatments had the worst notes in the control of mycelial fungus.

Keywords: *Heliconia sp.*, *Fusarium oxysporium f.sp. cubense*, alternative control, rhizome.

3.1. INTRODUÇÃO

A expansão do cultivo comercial de helicônias e o plantio em larga escala, vem ocasionando o aumento de problemas fitossanitários, apesar de que estas plantas apresentam rusticidade natural (Ribeiro *et al.*, 2012). O cultivo tem aumentado no Brasil, com a oferta de diferentes tipos de inflorescência, no entanto uma das limitações da cultura é a disseminação de doenças devido as mudas serem produzidas pela divisão do rizoma da planta (Torres *et al.*, 2005).

O *Fusarium oxysporum* é um fungo habitante do solo. Os esporos do fungo podem infectar plantas da família Musáceas e Heliconiaceas, sendo que a infecção inicia-se com a penetração do fungo pelas raízes secundárias ou terciárias, ascendendo do xilema até o rizoma e pseudocaule. (Ploetz *et al.*, 2003). Na propagação rizomática, se não for feito um tratamento prévio, o rizoma servirá como uma porta de entrada do patógeno, ocorrendo a infecção (Ribeiro *et al.*, 2012).

O objetivo deste trabalho é testar o efeito dos extratos acéticos e alcoólicos sobre o crescimento micelial do fungo *Fusarium oxysporium f.sp. cubense* em rizomas de helicônia.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Coleta

As plantas de helicônia da espécie *Heliconia rostrata* Ruiz & Pav., (APGII), foram coletadas dentro do município de Humaitá, Amazonas e levadas para o laboratório de Fitossanidade da Universidade Federal do Amazonas, Instituto de Educação, Agricultura e Ambiente.

No laboratório, as plantas passaram por uma pré-lavagem em água corrente para retirar resíduos de solo do campo. Em seguida, os rizomas foram cortados em pedaços de aproximadamente 1,0cm a 1,5cm, tratados com uma solução de hipoclorito a 2% e água destilada.

3.2.2. Preparo dos extratos

Para o experimento, utilizou-se os extratos alcoólico e acético de alho, mastruz e hortelã, com preparo conforme descrito no item 2.2.4. deste trabalho.

3.2.3. Tratamentos de rizomas com extrato de plantas

Os tratamentos foram feitos nas concentrações de extrato diluídos em água destilada e esterilizada a 0%, 5%, 10%, 15% e 100%. As amostras foram mergulhadas por 3 minutos na solução de extrato e postos em papel filtro para retirada de excessos. Em seguida foi feito a inoculação do fungo em duas das extremidades de cada amostra por tratamento, com isolados fungicos de *Fusarium oxysporium f.sp. cubense*.

Foram utilizadas três repetições por tratamento, com três cortes do rizoma em placas de Petri, cobertas por papel filtro umedecidos (Figura 5).

As placas permaneceram em badeiras e em câmara úmida por 48 horas a $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ e regime de fotoperíodo de 12 horas para propiciar o desenvolvimento fungico. Após 8 dias foram feitas as análises atribuindo notas de infecção conforme a escala descrita na Tabela 3, de crescimento micelial sobre as amostras.

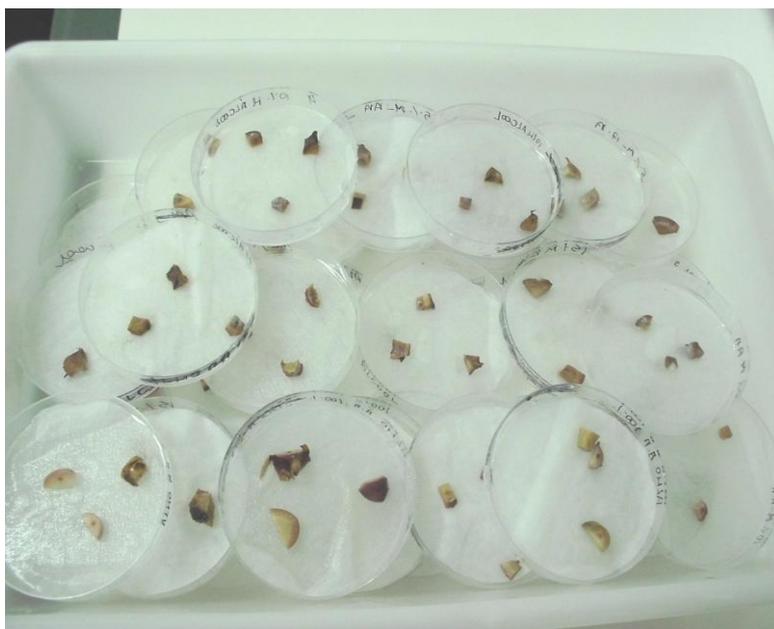


FIGURA 5. Tratamentos em rizomas de helicônia com 48 horas em câmara úmida.

TABELA 3. Escala de notas empregadas na avaliação do crescimento fúngico sobre o rizoma de helicônia.

Nota	Descrição
0	Ausência total de crescimento micelial do fungo sobre o rizoma: 100% de controle.
1	Pontos isolados de crescimento micelial, no local da inoculação do fungo: 80% de controle.
2	Crescimento micelial correspondente a até 1/3 do rizoma: 60% de controle.
3	Crescimento micelial correspondente de 1/3 e 2/3 do rizoma: 40% de controle.
4	Crescimento micelial superior a 2/3 do rizoma: 20% de controle.
5	Crescimento micelial sobre toda a amostra de rizoma: 0% de controle.

Fonte: CASTRO, 2007

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre os extratos empregados no tratamento com extrato acético (Figura 6), o extrato de mastruz foi o mais eficiente, com controle obtido nas concentrações 10% e 100%. Na concentração de 5% a infecção foi de 60%. Neste caso, o efeito antifúngico do extrato de mastruz mostrou-se mais eficiente quando em contato com o rizoma. A inibição do crescimento micelial nestes tratamentos pode ter ocorrido pela atividade antimicrobiana exercida pelos compostos do mastruz, que se mostrou mais eficiente quando aplicado em rizomas no controle do *Fusarium oxysporium f.sp. cubense*. De acordo com Silva (2010), a redução do crescimento micelial pode, também, está relacionada a ativação de mecanismos de defesa da planta.

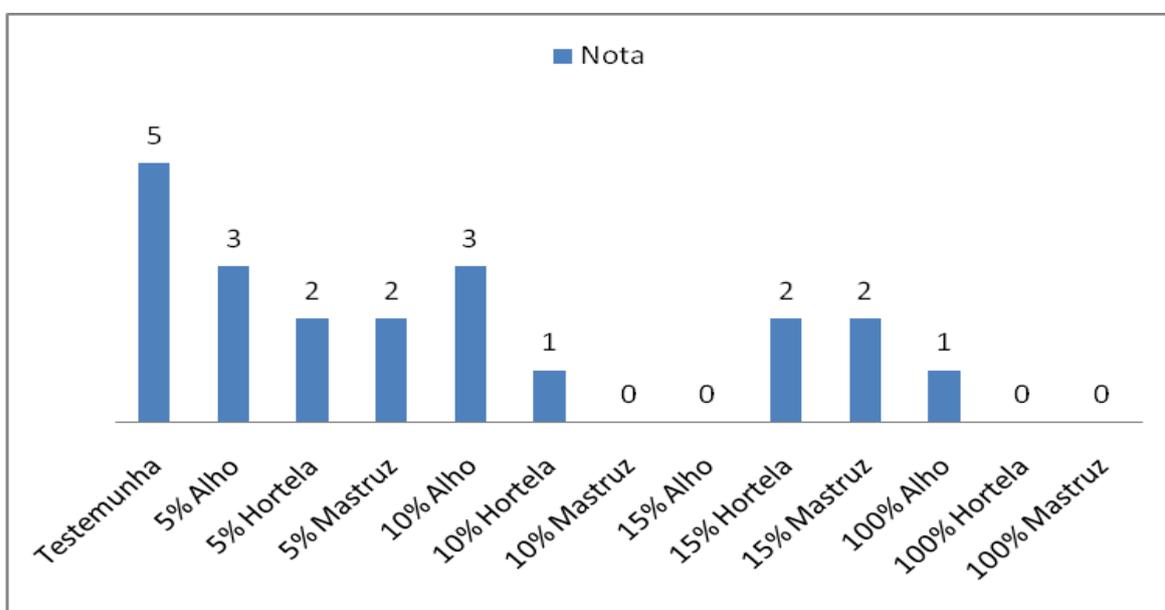


FIGURA 6. Notas atribuídas aos tratamentos com extrato acético em rizomas de helicônia.

O extrato acético de hortelã foi o menos eficiente no controle do crescimento micelial do fungo, entre estes tratamentos, obtendo controle de 100% do fungo somente na concentração de 100%. Em contrapartida, o extrato de alho obteve efeito fungitóxico na concentração de 15%, com ausência total de crescimento fungico sobre as amostras.

Os resultados para os extratos preparados com álcool mostraram que os tratamentos de alho não controlaram o fungo, uma vez que não foi obtido controle em nenhuma das concentrações (Figura 7), sendo este o tratamento menos eficiente sobre o crescimento micelial do *Fusarium oxysporium f.sp. cubense*. O

extrato de alho obteve inibição do crescimento micelial do fungo “in vitro”, porém, quando em contato com o rizoma da planta, o extrato não obteve o mesmo efeito fungitóxico. Neste caso, ainda, nota-se que com o aumento da concentração não houve inibição do crescimento do fungo. Muitos autores relataram e comprovaram em testes que o aumento da concentração tende a inibir o crescimento micelial fungico. De acordo com Venturoso (2009), quanto maior a concentração de extrato, maior é a tendência de controlar o crescimento do patógeno. Chalfoun e Carvalho (1997), estudando efeitos de extratos vegetais no controle de alguns fungos, também observaram em seus resultados que com o aumento da concentração dos extratos maior é o potencial de inibição do crescimento micelial dos fungos.

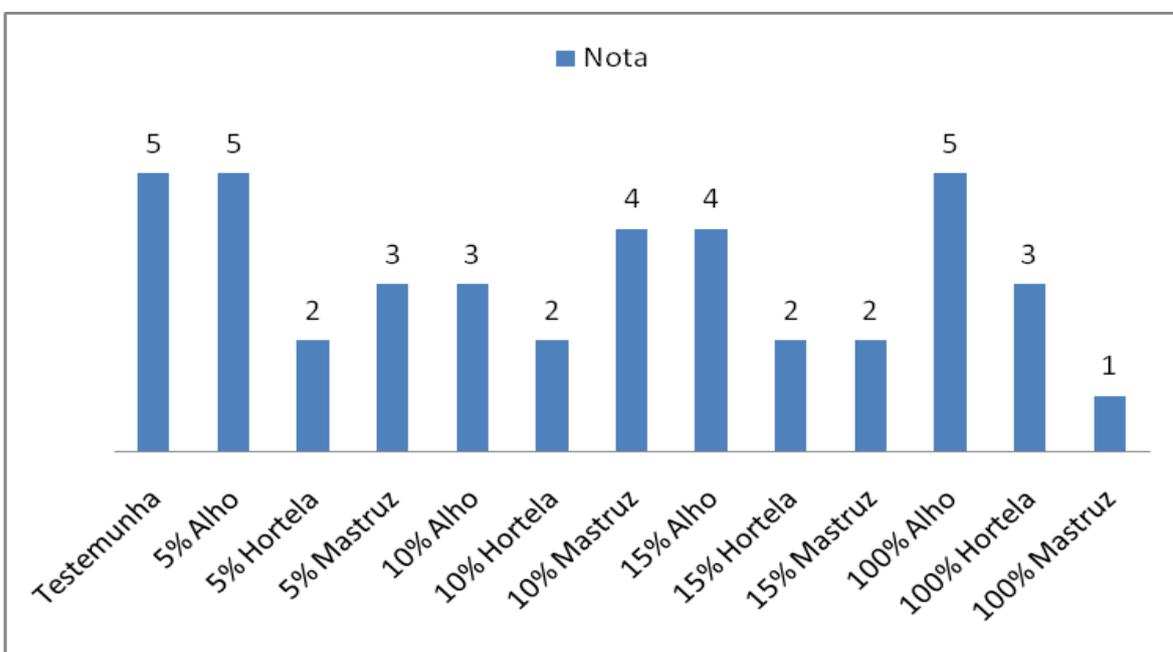


FIGURA 7. Notas atribuídas aos tratamentos com extrato alcoólico em rizomas de helicônia.

Explicação para a inibição do fungo não aumentar com o aumento da concentração de extrato podem ser explicados devido à “adaptação” rápida do fungo ao rizoma, por ser um material propagativo e, portanto, conter nutrientes e substâncias de reservas que podem ser utilizadas pelo fungo. Oliveira (2007) em estudos com patologia de sementes cita que o fungo pode sobreviver por muito mais tempo quando localizados nas sementes do que em outras partes da planta, devido, provavelmente pela existência de camadas protetoras e devido também, ao acúmulo de reservas nutritivas que podem ser utilizadas pelo patógeno.

Ainda na Figura 7, nota-se que o extrato de hortelã obteve controle de 60% do crescimento micelial do fungo sobre os rizomas nas concentrações de 5%, 10% e 15%. Neste caso, o efeito fungitóxico do extrato mostrou-se o mais significativo, com maior controle entre estes tratamentos, na concentração de 5%.

O extrato alcoólico de mastruz a 100% foi o que mais controlou o fungo em termos de crescimento fungico, com 80% de controle. Porém, em relação a quantidade de extrato utilizado diz-se que o controle não foi efetivo nesta concentração, em vista de que, de acordo com Venturoso (2009), as pesquisas sempre buscam o maior controle do fungo na menor concentração de extrato.

3.4. CONCLUSÕES

1. Os extratos preparados com ácido acético mostraram maior controle sobre o crescimento micelial.
2. Os extratos acéticos de 10% mastruz e alho, e 100% hortelã e matruz obtiveram o controle de 100% do crescimento micelial do fungo.
3. Entre os tratamentos alcoólicos, o alho foi o que menos exerceu atividade sobre a inibição do crescimento do fungo nos rizomas. O extrato alcoólico 100% mastruz obteve o maior controle sobre o fungo, com controle de 80%.

3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CASTRO, N. R. Murcha de *Fusarium* em *Heliconia spp.*: ocorrência, variabilidade e resistência genética em espécies ornamentais cultivadas em Pernambuco, Alagoas e Sergipe. **Tese de doutorado**. Recife. 2007. 77p.

CHALFOUN, S.M.; CARVALHO, V.D. Efeito do extrato de óleo industrial de alho sobre o desenvolvimento de fungos. **Fitopatologia Brasileira**, v.12, p.234-235, 1997.

OLIVEIRA, J.H.G. Morfologia, anatomia e desenvolvimento do fruto e semente de *Manihot caerulescens* Pohl. e *M. tripartita* Müll. Arg. (euphorbiaceae). **Dissertação** (Mestrado em Botânica). Universidade Estadual Paulista. 82p. 2007.

PLOETZ, R. C., THOMAS, J. E., SLABAUGH, W. R. Diseases of banana and plantain. **Disease of tropical fruit crops**. CABI: Wallingford, p. 73 - 134. 2003.

RIBEIRO, W. S.; BARBOSA, J. A.; Costa, L. C. **Helicônias**. Brasília: Editora Kiron, 2012. 134 p. : il ;

SILVA, L. S. Efeito de extratos foliares de nim em *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* e na intensidade do mal-do-panamá em mudas de bananeira cv. maçã. **Dissertação**. Janaúba. Minas Gerais, 2010. 61p.

TORRES, A. C., DUVAL, F. G., RIBEIRO, D. G., SANTOS, M. D. M. Produção de Mudas de *Heliconiarostrata* Livres de Doenças via Cultura de Embriões. Brasília: **Embrapa Hortaliças**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 06. 2005, 12p.

VENTUROSOSO, L. R. Extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos à soja. **Dissertação de Mestrado**. Dourados, 98p. 2009.

4. CONCLUSÕES GERAIS

1. O teste de patogenicidade comprovou a ocorrência do *Fusarium oxysporium f.sp. cubense* em helicônia.
2. Os extratos preparados com ácido acético obtiveram o maior controle no crescimento micelial e esporulação do *Fusarium oxysporium f.sp. cubense* nos três experimentos.
3. Nos três experimentos, os extratos inibiram de alguma forma o crescimento micelial e esporulação do fungo.
4. Com o extrato homogeneizado ao BDA, o alho obteve maior controle do crescimento micelial do fungo *Fusarium oxysporium f.sp. cubense*. No papel filtro, o extrato acético de hortelã controlou em todas as concentrações, seguido de mastruz a partir de 10% e alho 15%, entre os tratamentos alcoólicos apenas o extrato de mastruz 100% inibiu o crescimento micelial. No tratamento de extrato nos rizomas, os tratamentos acéticos de mastruz e alho a 10%, e 100% hortelã e matruz obtiveram o controle de 100% do crescimento micelial do fungo. O extrato alcoólico 100% de mastruz obteve o maior controle de 80% do fungo.
5. O uso dos extratos acético e alcoólico reduziram a esporulação do *Fusarium oxysporium f.sp. cubense* em todos os tratamentos.