

10^o

FEPEG FÓRUM

ENSINO • PESQUISA
EXTENSÃO • GESTÃO
RESPONSABILIDADE SOCIAL: INDISSOCIABILIDADE
ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



ISSN 1806-549 X

Autor(es): LUCAS SERAFIM BARBOSA VELOSO, ADELICA APARECIDA XAVIER, REGINA CÁSSIA FERREIRA RIBEIRO, JACQUELINE MENDES ALENCAR

Redução do desenvolvimento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* na presença de extrato de aquoso de pequi

Introdução

Resíduos de diferentes origens são em muitas regiões utilizados para produção de compostos orgânicos que podem ser utilizados pelos agricultores com objetivo de aumentar matéria orgânica no solo. Entretanto, estes compostos podem ter efeitos sobre microrganismos no solo. No Norte de Minas Gerais, no fim do verão há um grande volume de frutos de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) comercializados nos mercados locais, e aproximadamente 90% do que constitui o fruto (epicarpo e mesocarpo externo) são descartados (FERREIRA et al., 1988). Este resíduo é rico em compostos fenólicos, taninos, açúcares, entre outras substâncias (PLÁCIDO et al., 2015). A presença destas substâncias podem ter ação fúntóxica. Os taninos (polifenóis) apresentam a capacidade de inibir enzimas, de modificar complexos com íons metálicos, com conseqüente diminuição da disponibilidade desses para o metabolismo dos microrganismos, apresentando ação microbiana (MELO e SANTOS, 2002). Recentemente foi testado por Silva et al (2016) no controle de fitonematoóides e mostrou-se muito eficiente. Assim, este trabalho testa a hipótese de que o extrato de casca de pequi possui efeito supressor do desenvolvimento de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

Material e métodos

Os ensaios foram realizados com os fungos: *Fusarium oxysporum lycopersici* (fol-258) obtidos da coleção fúngica da Embrapa Hortaliças/Brasília-DF. O isolado foi mantido em meio SNA em geladeira a 4°C e, para os ensaios, foram multiplicados em meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Agar), em temperatura de ambiente de laboratório por um período de sete dias.

Para obtenção do extrato, o epicarpo (casca) e mesocarpo externo (polpa) dos frutos de pequi foram fragmentados e levados para secar na estufa a 65°C por 72 horas. Após a secagem, o material foi triturado em moinho elétrico Tecnal TE em peneira de 0,6 mm (30 mesh) e armazenado em freezer. Preparou-se um extrato aquoso na concentração de 5% do pó de pequi que foi mantido por 24 horas em temperatura ambiente. Em seguida, foi filtrado cinco vezes consecutivas, quatro em filtro de papel esterilizado, e a última em filtro Millipore com membrana de 0,2 µm acoplado à bomba vácuo.

Para avaliar o efeito do extrato aquoso o a pequi no crescimento micelial de fol-258 transferiu-se alíquotas do extrato aquoso de pequi a 5% para Erlenmeyer contendo meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) de forma a se obter as concentrações: 8,3; 11,5; 14,3 e 18,75 ml/L do extrato de pequi a 5%. O meio de cultura foi vertido e, após a solidificação, adicionou-se no centro de cada placa de Petri um disco de micélio de 5 mm de diâmetro do fungo multiplicado conforme descrito anteriormente. No tratamento testemunha adicionou-se água destilada e esterilizada ao meio BDA. As placas foram encubadas em BOD sob temperatura de 20 °C. Após, oito dias mediu-se o diâmetro da colônia do fungo nos dois sentidos da colônia com auxílio de um paquímetro. Para se estimar a produção de conídios/cm², retirou-se 3 discos de 0,5 cm de diâmetro da borda da área central da colônia, os quais foram agitados em um volume de 2 mL de água destilada e esterilizada por 30 segundos e, posteriormente quantificada em câmara de Neubauer. O número de conídios/cm² foi calculado nas diferentes concentrações do extrato de pequi.

O efeito do filtrado do extrato de pequi na germinação de conídios foi testado em dois ensaios: 1) Germinação dos conídios em contato direto como extrato e 2) Efeito do extrato na viabilidade de conídios oriundos de colônia desenvolvida na presença do extrato. Para realizar o primeiro ensaio, foi depositado 20 mL de solução água+Tween 80[®] a 1% às colônias de fol-258 e, com auxílio de uma lâmina de microscopia os conídios foram desagregados. A solução foi filtrada em dupla camada de gaze e, em câmara de Neubauer, calibrada para a concentração de 2x10⁶. Em um em um eppendorf de 2 mL foi adicionado uma alíquota da suspensão de conídios mais extrato de pequi a 5%, de forma que as concentrações finais atingissem: 8,3; 11,5; 14,3 e 18,75 ml/L do extrato e, aproximadamente 10⁶ esporos/mL. Os eppendorfs foram incubados em escuro contínuo a 20°C. A testemunha foi constituída de água esterilizada + conídios. Após 17 horas a germinação foi paralisada com lactofenol, e em câmara de Neubauer quantificaram-se os primeiros 100 conídios bem individualizados. Consideraram-se conídios germinados aqueles com tubo germinativo maior ou igual ao maior ao seu comprimento.

10^o

FEPEG FÓRUM

ENSINO • PESQUISA
EXTENSÃO • GESTÃO

RESPONSABILIDADE SOCIAL: INDISSOCIABILIDADE
ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



ISSN 1806-549 X

Para a viabilidade dos conídios obtidos de colônias desenvolvidas no meio contendo o extrato, preparou-se uma suspensão de conídios de cada tratamento (8,3; 11,5; 14,3 e 18,75 ml/L do extrato de pequi a 5%) conforme descrito anteriormente a qual foi calibrada para 10^6 conídios/mL e incubados em BOD, a 20 °C sob escuro contínuo. Após 17 horas a germinação foi paralisada com lactofenol e, em câmara de Neubauer, quantificaram-se os primeiros 100 conídios bem individualizados. Consideraram-se conídios germinados aqueles com tubo germinativo maior ou igual ao maior ao seu comprimento.

A porcentagem de inibição do crescimento micelial, da esporulação, da germinação, e da viabilidade de conídios foi estimada pela fórmula: % de inibição relativa (IR) = $[(XT - XC) / XT \times 100]$, onde: XT = raio da colônia de *fol-258*. no tratamento controle; XC = raio da colônia de *fol-258*. na presença das diferentes concentrações de pequi. Os dados foram submetidos a análise de variância e teste de regressão e Tukey a 5% de probabilidade pelo Sisvar (Ferreira, 2000).

Resultados e discussão

As doses testadas do extrato pirolenhoso apresentaram efeitos significativos sobre o crescimento micelial, esporulação e a viabilidade de conídios produzidos na presença do extrato. Entretanto, não se observou nenhum efeito na germinação dos conídios (Figura 1a). O crescimento micelial de *F oxysporum* f. sp. *lycopersici* reduziu com aumento da concentração do extrato aquoso de pequi. De acordo com o modelo ajustado para cada aumento unitário da concentração do extrato de pequi houve uma redução de 0,158 cm do crescimento micelial (Figura 1b), que possibilitou uma inibição de 32,59% na maior concentração testada em relação a testemunha (Tabela 1), entretanto estatisticamente as concentrações de 14,3 e 18,75% foram iguais. A viabilidade dos conídios foi significativamente reduzida em todas as concentrações comparado a testemunha, e atingiu valores máximos de inibição de 85,25% na concentração de 14,3% do extrato (Tabela 1). Trabalhos indicam que a utilização de extratos vegetais pode ser eficiente na redução do crescimento micelial de fungos fitopatogênicos. Os extratos de alho (*Allium sativum* L) e capim-santo (*Cymbopogon citratus* Stapf.) testados por Souza et al. (2007) no controle de *F. proliferatum* mostrou redução no crescimento micelial do fungo nos tratamentos que empregaram os extratos de alho a 5,0% e 2,5% e de capim santo a 10,0% e 5,0%, demonstrando assim o potencial da utilização de extratos vegetais na redução do crescimento micelial de fitopatógenos .

Conclusão/Conclusões/Considerações finais

O extrato pirolenhoso reduz o crescimento micelial e viabilidade de *Fusarium oxysporum lycopersici*.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Embrapa Hortaliças/Brasília-DF pela concessão dos isolados.

Referências bibliográficas

- FERREIRA, F. R. et al. Caracterização física e química de frutos maduros de pequi. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 9., 1987, Campinas, Resumos... Campinas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1988. v. 2, p. 643-646.
- MELO, C. P. de; SANTOS, S. da C. Taninos. In: _____. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2002. 871 p.
- PLÁCIDO, G. R. et al. Physical and chemical parameters, total phenols and the antioxidant activity of pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **African Journal of Agricultural Research**, Ebene, v. 10, p.534-542, 2015.
- SILVA, F. F.; et al. Rizobactérias associadas a materiais orgânicos no controle de Meloidogyne javanica em tomateiro. **Horticultura Brasileira**, v. 34, n.1,2016.
- SOUZA, A.E.F., ARAÚJO, E. & NASCIMENTO, L.C. Atividade antifúngica de extratos de alho e capim-santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolado de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira** 32:465-471. 2007.

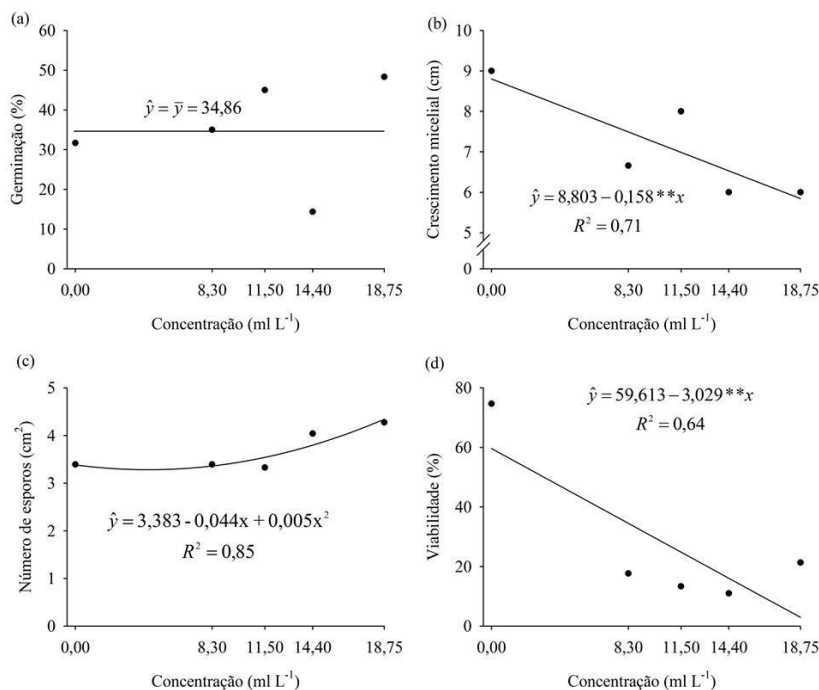


FIGURA 1- Germinação (a), crescimento micelial (b), esporulação (c), viabilidade (d) do fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Iso-258) em diferentes concentrações do extrato aquoso de pequi.

Tabela 1. Porcentagem de inibição do crescimento micelial, esporulação, germinação e viabilidade de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* em diferentes concentrações do extrato aquoso de pequi (Iso-258).

Concentração Do extrato de pequi (mL/L)	Inibição (%)			
	Crescimento micelial	Esporulação	Germinação	Viabilidade
0,0	00,50±0,0* A	0,00±0,0 n.s	0,50±0,0 A	0,50±0,0 A
8,3	22,96±8,0 BC	5,29±5,43 n.s	52,05±4,1 C	76,32±2,8 BC
11,5	16,67±0,0 B	11,30±19,58 n.s	38,36±7,3 BC	82,13±4,7 CD
14,3	35,19±7,8 C	0,0±0,0 n.s	80,37±2,9 D	85,25±1,3 D
18,75	32,59±2,3 C	2,29±3,96 n.s	33,79±9,1 B	71,40±0,8 B
CV (%)	19,96	----	13,0	4,04