

**ATIVIDADE DE EXTRATOS VEGETAIS NO
CONTROLE DE *Fusarium pallidorozeum*(Cooke)
Sacc EM MELOEIRO**

Ingrid Bernardo Lima Coutinho¹

Paulo Roberto Gagliardi²

Marcio Akio Ootani³

Resumo – O objetivo do trabalho foi avaliar a ação fungicida *in vitro* e *in vivo* de diferentes extratos vegetais hidroalcoólicos no controle de *Fusarium pallidorozeum* em frutos de meloeiro. No ensaio *in vitro* cada extrato foi testado nas concentrações de 0,0; 0,05; 0,10; 0,15; 0,20 e 0,25 mL mL⁻¹, ou seja, 0; 5; 10; 15; 20 e 25% respectivamente de cada extrato por mL de meio de cultura. O experimento foi conduzido sob condições controladas a 28 ± 2°C e fotoperíodo de 12 h, em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 10×5, ou seja, extratos hidroalcoólicos de dez espécies vegetais testados em cinco concentrações, onde cada tratamento apresentou cinco repetições. Foram avaliados o percentual de inibição e o índice de crescimento micelial do patógeno, assim como a concentração inibitória do crescimento micelial a 50% de cada tratamento. No ensaio *in vivo* foram utilizados frutos de meloeiro inoculados e tratados com a concentração de 25% de cada extrato e mantidos sob condições de 28 ± 2 °C e UR de 52 ± 2%. Os extratos de *L. sidoides* e *S. aromaticus* apresentaram-se como os mais eficazes nos testes *in vitro*, inibindo em 100% o crescimento do patógeno a partir da

¹ Engenheira Agrônoma; mestra em Agronomia/Fitotecnia/Floricultura e Plantas ornamentais; doutoranda em Agronomia/Fitotecnia/Fitomoléstias tropicais. Universidade Federal do Ceará. Email: ibl_ingrid@hotmail.com.

² Doutor em Agronomia - ESALQ/USP. Professor adjunto da Universidade Federal de Sergipe – Centro de Ciências Agrárias Aplicadas – Depto de Engenharia Agrônômica.

³ Mestre em Produção Vegetal/Fitossanidade; doutorando em Fitotecnia /Fitossanidade. Universidade Federal do Ceará.

concentração de 0,10 mL mL⁻¹. No teste *in vivo*, os extratos de *O. gratissimum*, *L. sidoides* e *S. aromaticus* na concentração de 0,25 mL mL⁻¹ inibiram a doença em 100% até o 7º dia da inoculação.

Palavras-chave: Podridão-de-fusario. Controle alternativo. Melão.

1 INTRODUÇÃO

A fruticultura é um dos segmentos mais importantes da agricultura brasileira, respondendo por 25% do valor da produção agrícola nacional. Contudo, a participação do Brasil nas exportações mundiais de frutas é ainda incipiente, correspondendo a apenas 2% (BRASIL et al., 2008).

O Nordeste brasileiro é a região responsável por aproximadamente 99,5% (282.000 t) da produção de melões, destacando-se tanto no mercado interno quanto na exportação. O meloeiro (*Cucumis melo* L.), pertencente à família Curcubitaceae, é uma das espécies que, devido a sua ampla adaptação a diferentes solos e clima, se tornou uma das principais olerícolas cultivadas na região. Porém, apesar de sua adaptação às condições edafoclimáticas do Nordeste, inúmeros fatores têm contribuído para a queda da produtividade e qualidade, destacando-se as doenças como um agravante; além disso, como a cultura é de ciclo curto, sofre efeitos irreversíveis, principalmente na pós-colheita, por não haver tempo de a planta se recuperar (VIANA et al., 2001).

A podridão-de-fusário é uma das principais causas de perdas de melões do tipo cantaloupe, afetando vários outros tipos (DIAS; TERAO, 2006). O agente causal é o fungo *Fusarium pallidoroseum* (Cooke) Sacc. pertencente à subclasse Hyphomycetidae, comumente encontrado no solo e em restos de plantas nas regiões tropicais e subtropicais. As lesões provocadas pelo patógeno são produzidas em qualquer parte do fruto, mas são mais frequentes na zona da abscisão peduncular, ocorrendo inicialmente o aparecimento de pequena lesão

encharcada, acompanhada de intenso crescimento micelialcotonoso branco (DIAS; TERAQ, 2006); internamente, os frutos infectados apresentam lesões marrons, cuja seção de corte revela uma podridão esponjosa e seca, com um halo branco. Havendo condições ambientais favoráveis, observa-se rápida evolução no tamanho da lesão, com aparecimento de fissuras, constituindo a porta de entrada para saprófitos oportunistas, que as colonizam rapidamente, destruindo completamente o fruto (DIAS; TERAQ, 2006). Métodos como refrigeração associada com sanitização de frutos (TERAQ et al., 2006), uso de fungicidas naturais à base de óleos essenciais (GADELHA, 2002), dentre outros, vêm sendo utilizados de forma preventiva e curativa de modo a minimizar o problema de podridão-de-fusário em melão, com o objetivo de buscar novas alternativas ao controle da doença.

Devido à crescente resistência dos micro-organismos patogênicos frente aos produtos sintéticos, a procura por uma linha de controle de patógenos a partir de extratos vegetais vem sendo amplamente explorada visando a substituir ou reduzir o uso de produtos químicos utilizados indiscriminadamente. Os extratos vegetais podem ser considerados como produtos obtidos pela passagem de um solvente, como a água ou o álcool etílico, através da planta moída ou não, de modo a se retirar compostos ativos nela contidos (STADNIK; TALAMINI, 2004).

Diante da diversidade de substâncias que existem nas plantas e a possibilidade da descoberta de novos produtos antifúngicos, a eficiência do defensivo natural depende da espécie envolvida, do tipo de doença controlada e dos processos tecnológicos utilizados na obtenção e manipulação do extrato (SILVA, 2005). De acordo com Montes-Belmont et al. (2000), pesquisas realizadas com o uso de extratos brutos visando ao controle de fitopatógenos têm demonstrado que alguns possuem comprovadas propriedades antimicrobianas que afetam o desenvolvimento fúngico tanto *in vitro* quanto *in vivo*. No entanto, estudos estão sendo direcionados visando à aplicabilidade destes produtos *in vivo*, explorando patossistemas em

plantas cultivadas e em tratamentos de doenças pós-colheita, na busca por propriedades fungitóxicas.

Objetivou-se nesta pesquisa avaliar, *in vitro* e *in vivo*, a atividade antimicrobiana de extratos vegetais no controle da podridão-de-fusário do meloeiro causado por *F. pallidoroseum*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos nos laboratórios de micologia do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, em associação com o laboratório de fitopatologia da Embrapa Agroindústria Tropical, em Fortaleza-CE, durante o período de janeiro a junho de 2010.

2.1 Obtenção do isolado de *F. pallidoroseum*

O *F. pallidoroseum* foi isolado a partir de frutos de meloeiro tipo Galia, provenientes de empresas produtoras e exportadoras localizadas no município de Mossoró-RN, exibindo sintomas de podridão-de-fusário e colhidos nos meses de outubro e novembro de 2009. Seguindo as aplicações dos postulados de Koch, realizou-se o isolamento do patógeno: uma massa de conídios retirada dos frutos infectados foi transferida para placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo meio ágar-água (AA) + tetraciclina ($50 \mu\text{g mL}^{-1}$); estas placas foram vedadas com parafilme e mantidas em sala de incubação à temperatura de $28 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12h, durante 7 dias. Após este período, confirmou-se a identificação patógeno como *F. pallisoroseum* pelo fitopatologista do laboratório de patologia pós-colheita da Embrapa Agroindústria Tropical, o qual fundamentou sua identificação com base em observações microscópicas das estruturas do patógeno e com o auxílio de literatura especializada. Após identificação, o fungo foi repicado em placas com meio de cultura BDA (Batata Dextrose e Ágar) e armazenado nas mesmas condições citadas acima, acompanhando-se seu crescimento durante 7 dias.

2.2 Obtenção dos extratos hidroalcoólicos (EHAs)

Os extratos hidroalcoólicos (EHAs) foram preparados com folhas secas de alfavaca roxa (*Ocimumgratissimum*), alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham), capim citronela (*Cymbopogon nardus* Jowitt), hortelã rasteira (*Mentha villosa* Huds), fornecidas pelo NEPAU (Núcleo de Ensino e Pesquisa em Agricultura Urbana), capim-limão (*Cymbopogon citratus*), fornecidas pela Farmácia Viva Professor F. J. Abreu Matos, da UFC, bulbos de alho (*Allium sativum* L), gengibre (*Zingiber officinale*), botões florais secos de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticus* L.) e grãos de pimenta-do-reino (*Pipper nigrum* L.), obtidos no comércio local. Folhas de alecrim pimenta, capim-limão, capim citronela, hortelã rasteira e alfavaca roxa foram secadas por três dias consecutivos em estufa de pré-secagem a 60 °C, em seguida pesadas na proporção de 1:10 (p/v) e imersas em solução hidroalcoólica a 50 % (50 % de etanol e 50 % de água destilada). Os EHAs de alho, cravo-da-índia, pimenta do reino e gengibre foram preparados pesando-se separadamente 200g de cada material vegetal e triturando-os em liquidificador, adicionando-se 500 mL de álcool etílico e 500 mL de ADE, obtendo-se deste modo a solução hidroalcoólica a 50 %. Todos os EHAs foram mantidos em repouso por 72 h em frascos vedados e protegidos da luz. Após o repouso, os extratos foram coados em uma peneira forrada por uma dupla camada de gaze. O solvente (etanol) foi eliminado através de rotoevaporação a vácuo, utilizando um rotoevaporador do modelo Waiter Bath da marca Büchi, e os extratos foram armazenados em frascos escuros e mantidos sob refrigeração a 6 °C.

2.3 Ensaio *in vitro*

Alíquotas dos EHAs foram vertidas em meio Batata Dextrose Agar (BDA) + tetraciclina (50 µg.mL⁻¹) a fim de obter as concentrações de 0,05 ; 0,10; 0,15; 0,20 e 0,25 mL mL⁻¹, que correspondem respectivamente às concentrações de 5; 10; 15; 20 e 25% de cada EHAs. Estes meios adicionados de extrato foram

distribuídos em placas de Petri, em média 20 mL/placa. Após solidificação, um disco de micélio do patógeno, com 7 dias de crescimento e com diâmetro de 7 mm, foi depositado no centro de cada placa de Petri com seus respectivos tratamentos; as placas foram vedadas com parafilme e mantidas em uma sala de incubação a $28 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 h. Placas de Petri contendo apenas meio BDA e tiabendazol ($400 \mu\text{L p.c } 100 \text{ L}^{-1}$ de H_2O) foram utilizadas como testemunhas absolutas e relativas, respectivamente. Diariamente, até o 7º dia de incubação, avaliou-se o crescimento micelial do patógeno, medindo-se com uma régua graduada o diâmetro das colônias em dois sentidos ortogonais.

No 7º dia de incubação a esporulação do *F. pallidoroseum* foi quantificada apenas nas placas que representavam os tratamentos correspondentes à concentração de $0,05 \text{ mL mL}^{-1}$ (5%) de cada EHAs. Para isto foram adicionadas 10 ml de água destilada, contendo Tween 80 em cada repetição do tratamento, e com o auxílio de um pincel foi realizada a dispersão dos conídios do micélio crescido sobre a placa. A suspensão obtida foi então filtrada em camada dupla de gaze e a concentração de conídios mensurada utilizando a câmara de Neubauer em um microscópio óptico.

As variáveis calculadas foram:

- a Percentagem de Inibição do Crescimento Micelial (PICM) do patógeno, segundo Silveira et al., (2003), utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{PICM} = (\text{Dt} - \text{Dn}) / (\text{Dt} - 7) \times 100$$

Sendo:

Dn = diâmetro médio (mm) das colônias do tratamento n;

Dt = diâmetro médio (mm) da testemunha (sem fungicida);

7 = diâmetro dos discos (mm);

- as variáveis referentes ao comportamento do crescimento micelial do patógeno ao longo das concentrações testadas para cada EHAs e
- a Concentração Letal (CL_{50}) para controlar 50% do crescimento micelial do patógeno.

O ensaio foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado seguindo um esquema fatorial de 10×5 , correspondente a dez extratos hidroalcoólicos de diferentes espécies vegetais testados sob cinco concentrações diferentes. Para cada tratamento foram utilizadas cinco repetições, onde cada repetição correspondeu a uma placa de Petri.

As variáveis PICM e de esporulação foram analisadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para as médias do comportamento do crescimento micelial ao longo das concentrações testadas para cada EHAs utilizou-se análise de regressão, sendo a escolha dos modelos baseada na significância dos coeficientes por meio do teste t de “Student”, no nível de 5% de probabilidade. Para a CL_{50} utilizou-se a análise de regressão linear e transformação de log-probit. O programa estatístico utilizado foi o Statistic 8.0.

2.4 Ensaio *in vivo*

Foram utilizados frutos sadios de melão do tipo amarelo, adquiridos na Central de Abastecimento do Ceará (Ceasa-CE), que se encontravam no estágio de maturação comercial. Por ocasião do ensaio no laboratório os frutos foram submetidos a uma imersão em álcool 70% por 1 minuto, em solução com hipoclorito de sódio a 1,5 % por 1 minuto, e lavados duas vezes em água destilada. Após secagem em temperatura ambiente, os frutos foram divididos em quatro partes iguais na região equatorial dos mesmos, demarcadas com o auxílio de uma caneta hidrográfica. Nestas divisões, com o auxílio de um furador de rolha, foram feitos três orifícios (5 mm de diâmetro e 3 mm de profundidade) equidistantes de 3 cm, formando um triângulo equilátero. Em cada orifício foram inoculados 20 μ L da suspensão de conídios de *F. pallidoroseum* ajustada para 16×10^6 esporos mL^{-1} e em seguida os orifícios receberam alíquotas de 20 μ L de cada EHAs na concentração de 0,25 $mL mL^{-1}$. Orifícios tratados apenas com água destilada esterilizada ou com fungicida tiabendazol (400 μ Lp.c/100 mL) serviram como testemunha absoluta e relativa, respectivamente. Após inoculação, os frutos foram mantidos durante 7 dias em sala de

incubação a 28 ± 2 °C e umidade relativa do ar de $52 \pm 2\%$ e avaliados diariamente através da medição do diâmetro das lesões nos frutos.

O experimento seguiu um delineamento inteiramente casualizado, com 11 tratamentos e 4 repetições, sendo cada repetição representada por três orifícios presentes nos frutos de melão. As variáveis analisadas foram: (a) o crescimento micelial diário do patógeno, em milímetro; as médias foram analisadas por regressão, sendo a escolha dos modelos baseada na significância dos coeficientes linear e quadrático, por meio do teste t de “Student”, no nível de 5% de probabilidade; (b) Índice de Crescimento Micelial (ICM), onde as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS

3.1 Ensaio *in vitro*

Os dados da Tabela 1 referem-se à inibição do crescimento micelial *in vitro* de *Fusarium pallidioroseum* até o 6º dia de incubação frente à atividade antifúngica dos diferentes extratos vegetais hidroalcoólicos (EHAs) testados. Observa-se que os extratos que apresentaram maiores efeitos sobre o crescimento micelial do patógeno foram os das espécies *L. sidoides* e *S. aromaticum*, que a partir da concentração de 10% já inibiram 100% do seu crescimento.

Costa *et al.* (2003), ao utilizarem o extrato bruto de alecrim pimenta em um experimento realizado *in vitro*, observaram uma redução de 95% do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* nas concentrações de 15 e 20%. Trabalhos realizados com extrato de *Lippia sp.* revelaram que suas folhas podem ser usadas em infusão por possuírem propriedades de antibióticos, analgésicos, anti-inflamatórios e potencial antioxidante (OLIVEIRA *et al.*, 2006; HENNEBELLE *et al.*, 2008).

As atividades antifúngicas de *Lippia berlandieri*, *L. sidoides* e *L. rugosa* inibiram o crescimento micelial de leveduras, dermatófitos e outros fungos filamentosos (PORTILLO-RUIZ *et al.*, 2005; FONTENELLE *et al.*, 2007; TATSADJIEU *et al.*, 2009). O trabalho de

Salgado *et al.* (2003) demonstrou a redução do crescimento micelial da espécie de *Fusarium oxysporum*, sendo sensível à ação dos óleos essenciais de *Eucalyptus citriodora*, *E. urophylla* e *E. camaldulensis*, enquanto Silva *et al.* (2005), com óleos essenciais de *Lippia sidoides* contra *Colletotrichum gloeosporioides* do maracujá impediram a germinação do fungo na concentração de 100 µL, mostrando a eficiência dos produtos provenientes de vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. A fungitoxidade de *Lippia alba* não é bem explorada.

Tabela 1 - Percentagem de inibição do crescimento micelial de *Fusarium pallidoroseum* para extratos vegetais hidroalcoólicos, ao 7º dia de incubação.

Tratamentos	Concentrações (%)					
	0	5	10	15	20	25
<i>O. gratissimum</i>		27,84 ^{BCD} b	87,82 ^{AB} a	100 ^A a	100 ^A a	100 ^A a
<i>A. sativum</i>		5,28 ^E b	85,20 ^{AB} a	84,96 ^{AB} a	100 ^A a	100 ^A a
<i>L. sidoides</i>		52,64 ^{AB}	100 ^A a	100 ^A a	100 ^A a	100 ^A a
<i>S. aromaticum</i>		45,20 ^{AB} b	100 ^A a	100 ^A a	100 ^A a	100 ^A a
<i>C. citratus</i>		10,48 ^{DE} c	24,38 ^D c	75,64 ^B b	97,34 ^A a	100 ^A a
<i>C. nardus</i>		11,95 ^{DE} c	75,14 ^B b	98,48 ^A a	100 ^A a	100 ^A a
<i>Z. officinale</i>		17,86 ^{CDE} d	51,78 ^C c	83,32 ^{AB} b	100 ^A a	100 ^A a
<i>M. villosa</i>		44,98 ^{AB} c	82,10 ^B Ab	98,64 ^A a	100 ^A a	100 ^A a
<i>P. nigrum</i>		31,12 ^{BC} b	39,28 ^{CD} b	100 ^A a	100 ^A a	100 ^A a
Tiabendazol*	88,48	^a				
Testemunha	00,00	^c				
CV (%)	12,82					

Obs.: Médias seguidas de mesma letra minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

* Produto utilizado na concentração indicada pelo fabricante (400mL/1L) sendo o mesmo utilizado como testemunha relativa no experimento.

Autores relataram atividade antifúngica de vapores de óleo contra patógenos de cana-de-açúcar, relatando também este efeito por várias outras espécies vegetais, como *Mentha arvensis*, *Carum capticum*, *Cymbopogon citratus*, *Eugenia caryophyllata*, *Cedrus Deodara*, *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Eucalyptus lehmannii* e *Eucalyptus rudis*,

Ocimum gratissimum e *Thymus vulgaris* avaliadas sob diversos patógenos como *Odontotermes obesus*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium expansum*, *Meloidogyne incognita* e pragas de armazenamento do gênero *Ephestia kuehniella*, *Ephestia cautella* e *Ectomyelois ceratoniae* (GUPTA *et al.*, 2011; BEN JEMAA *et al.*, 2012), evidenciando a eficácia destes produtos naturais e a relevância dos estudos de suas propriedades microbianas.

Ainda na Tabela 1 observou-se para o extrato de *S. aromaticum* que as concentrações de 10, 15, 20 e 25% apresentaram inibição de 100%, sendo o segundo melhor tratamento a proporcionar redução no crescimento micelial do patógeno. Outros autores também notaram o efeito desta espécie vegetal inibindo o crescimento *in vitro* de *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium corylophilum*, *Eurotium amstelodami* (GUYNOT *et al.*, 2003). Para o extrato de *O. gratissimum* verificou-se que a partir da concentração de 15% houve 100% de inibição no crescimento. Nas concentrações de 5, 10 e 15% o extrato de *A. sativum* inibiu parcialmente o crescimento micelial de *F. pallidoroseum* em 5,28, 85,20 e 84,96 % respectivamente, em relação à testemunha, diferindo significativamente a partir da concentração de 10%, com seu crescimento reduzido a zero nas concentrações de 20 e 25%. Os autores Singh *et al.* (1979) avaliaram o efeito de extrato da folha do alho em *Fusarium oxysporum* f. sp. *cicerie* em *Sclerotinia sclerotiorum* e observaram que o extrato, nas concentrações de 7.000 e 5.000 ppm, respectivamente, reduziram o crescimento desses fungos em meio líquido. Almeida (2009) utilizando o extrato vegetal de *Alliums ativum*, indica que a planta possuiu um alto potencial fungitóxico para o controle de *Colletotrichium acutatum*. Os autores Tariq e Magee (1990) provaram que o extrato de *Alliums ativum* a 500 mg mL⁻¹ tem poder fungicida, inibindo a produção de microconídios e clamidósporos em *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Para o extrato de *C. citratus* verificou-se que apenas a partir das concentrações de 15% o mesmo foi capaz de reduzir

significativamente o crescimento micelial, sendo que nas concentrações de 20% e 25% (sem diferença estatisticamente significativa) houve a redução total do crescimento. Os extratos de *C. nardus*, *Z. officinale* e *M. villosa*, avaliados no presente trabalho, apresentaram resultados semelhantes, com inibição de 100% sobre o fungo *F. pallidoroseum* nas concentrações de 15%, 20% e 25%. Já para o EHA de *P. nigrum*, a partir da concentração de 15% verificou-se diferenças significativas entre suas doses já inibindo 100% o crescimento do fungo. Segundo Santos et al. (2007), óleo essencial de *Syzygium aromaticum*, na concentração de 500 mg Kg⁻¹, promoveu a inibição de 100% do ICM dos fungos *Rhizoctonia solani* e *Fusarium oxysporum*. Os óleos essenciais de *Syzygium aromaticum*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon martini* e seus componentes majoritário cinamaldeído, eugenol, citral e geraniol, respectivamente, tiveram efeito sobre a estrutura de crescimento das hifase na virulência de *Aspergillus fumigatus* *Trichophyton rubrum* (KHAN; AHMAD, 2011). Estudos com óleos *Syzygium aromaticum* L. e *Cinnamomum zeylanicum* L. nos fungos *Lasiodiplodia theobromae*, *Colletotrichum musae* e *Fusarium proliferatum* apresentaram efeito fungistático e fungicida contra esses fungos, que são agentes causais da podridão da coroa (RANASINGHE et al., 2002). Fatemi et al. (2011) verificaram que os óleos essenciais naturais das plantas de *Thymus vulgaris* e *Mentha piperita* nas concentrações de 0, 100, 300, 500 e 1000 ppm, inoculadas e não inoculadas em laranja (*Citrus Sinensis* cv. Valencia) mostraram que na concentração de 1000 ppm houve redução na decomposição de laranjas causada por espécies de *Penicillium*, diminuiu seu crescimento micelial em 27% quando comparado à testemunha inoculada.

Extratos vegetais e óleos essenciais e seus compostos possuem caráter lipofílico que interagem com a membrana dos microrganismos e causam alterações bioquímicas. A hidrofobicidade dessas moléculas possibilita degradar as membranas celulares dos fungos, alterando suas

funções e deixando-as mais permeáveis (BURT, 2004). Como fruto destas perturbações, os efeitos causados são a ruptura do fluxo de elétrons, alterações no transporte de moléculas através da membrana, inibição de atividade de certas enzimas e coagulação do conteúdo citoplasmático, sendo estes mecanismos envolvidos na promoção do poder antimicrobiano dos óleos essenciais descritos na literatura (COX et al., 2000). Segundo Linde et al. (2010), óleo essenciais de *Lippia rehmannii* e *Cymbopogon citratus* e seus compostos diminuíram o crescimento micelial da maioria dos fitopatógenos *Lasiodiplodia theobromae*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* e *Rhizoctonia solani*, sendo o composto citralo maior responsável pela atividade antifúngica. Trabalhos com extratos vegetais de aroeirinha (*Schinus molle* L.), mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.), karanja (*Pongamia glabra*), alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), losna (*Artemisia absinthium* L.), jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels), arruda (*Ruta graveolens* L.), mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), santa bárbara (*Melia azedarach* L.) e pimenta longa (*Piper aduncum* L.) na concentração de 30% sobre o patógeno mofo branco, causado pelo patógeno *Sclerotinia sclerotiorum* óleo de karanja foi a mais eficiente na redução do crescimento micelial, com 63% de inibição do crescimento micelial (GARCIA et al., 2012).

Observa-se pela análise de regressão (Tabela 2) que todos os EHAs testados apresentaram comportamento quadrático em suas equações, mostrando que à medida que as concentrações aumentam, ocorre a redução do crescimento micelial do fungo. O EHA de *C. citratus* foi o que apresentou maior coeficiente angular em sua equação, demonstrando com isso sua menor eficiência em inibir o crescimento do patógeno; de modo contrário, o EHAs de *L. sidoides* apresentou o menor coeficiente angular, reduzindo o crescimento do fungo a quase zero a partir da concentração 0,10 mL mL⁻¹ (10%).

Tabela 2 - Parâmetros da equação de regressão ($Y = ax^2 + bx + Y_0$) do crescimento micelial *in vitro* de *F. pallidoroseum* submetido aos respectivos extratos.

Extrato	Partes	Parâmetros da regressão					
		A	B	Y_0	P	R ²	F
<i>O. gratissimum</i>	Flor	-981,29	2214,29	107,00	0,002	0,99	529,27*
<i>A. sativum</i>	Bulbos	-952,43	2391,43	91,36	0,098	0,80	9,20
<i>L. sidooides</i>	Folhas	-434,86	1142,86	38,70	0,072	0,85	12,87
<i>S. aromaticum</i>	Flor	-663,71	1685,71	62,10	0,024	0,95	40,67*
<i>C. citratus</i>	Folhas	-1070,57	2828,57	94,50	0,083	0,83	11,00
<i>C. nardus</i>	Folhas	-1057,60	2680,00	99,36	0,026	0,94	37,54*
<i>Z. officinale</i>	Rizomas	-724,54	1517,14	85,80	0,003	0,99	387,49**
<i>M. villosa</i>	Folhas	-694,43	1671,43	70,20	0,013	0,97	74,28*
<i>P. nigrum</i>	Grãos	-580,00	1200,00	69,40	0,002	0,99	417,50*
Testemunha	-----	0,00	0,00	60,00	0,000	1,00	-----
Thiabendazole	-----	0,00	0,00	7,00	0,000	1,00	-----

Na análise de probit (Tabela 3) para Concentração Letal 50% e o Intervalo Fundicial [CL₅₀ IF (*low a up*)], os extratos de *L. sidoide* [0,034 (0,023 a 0,042) mLmL⁻¹] e *S. aromaticum* [0,046 (0,038 a 0,053) mLmL⁻¹] apresentaram os maiores efeitos na inibição no crescimento micelial *in vivo*, sendo significativo pelo teste do qui-quadrado a 5% de probabilidade; entretanto o extrato de folhas de *C. citratus* [0,079 (0,041 a 0,097) mL mL⁻¹] e *C. nardus* [0,072 (0,041 a 0,097) mL mL⁻¹] foram os que apresentaram menor efeito inibitório e os maiores valores de CL₅₀.

Tabela 3 - Análise de probit Concentração Letal para controlar 50% (CL₅₀) do crescimento micelial *in vitro* de *Fusarium pallidoroseum* submetidos ao efeito dos respectivos extratos.

Extrato	CL ₅₀ (ml ml ⁻¹)	GL	IF (CL ₅₀)	Inclinação	□ ²	P
<i>O. gratissimum</i>	0,057	3	0,041-0,065	-18,276	32,6599	0,000001
<i>A. sativum</i>	0,061	3	0,009-0,082	-4,4669	9,5557	0,0227
<i>L. sidoides</i>	0,034	3	0,023-0,042	-3,6632	2,4755*	0,4797
<i>S. aromaticum</i>	0,046	3	0,038-0,053	-4,2515	3,3622*	0,3390
<i>C. citratus</i>	0,079	3	0,071-0,086	-4,8237	4,1078*	0,2500
<i>C. nardus</i>	0,072	3	0,041-0,097	-4,1972	7,2734*	0,0636
<i>Z. officinale</i>	0,069	3	0,037-0,094	-3,8952	7,5616*	0,0559
<i>M. villosa</i>	0,052	3	0,044-0,060	-3,8622	1,5251*	0,6764
<i>P. nigrum</i>	0,058	3	0,022-0,083	-3,3788	7,6750*	0,0532
Testemunha	-----	3	-----	-----	-----	-----
Thiabendazole	-----	3	-----	-----	-----	-----

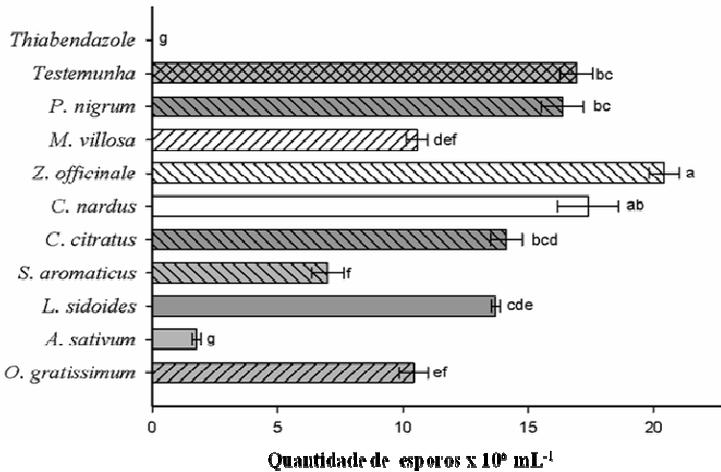
CL = Concentração Letal (mL.mL⁻¹); GL = Grau de Liberdade; IC = Intervalo Fundicial; □² = Qui-quadrado; P = Probabilidade. *Não-significativo pelo teste do qui-quadrado, a 5% de probabilidade.

Na regressão o menor valor para o coeficiente angular também comprova que esses dois extratos *L. sidoides* e *S. aromaticum* tiveram efeito inibitório com ação antifúngica. Ao compararmos com os dados representados na Figura 1, onde os menores ângulos de inclinação da regressão ($a = -434,86$ e $-663,71$) dos EHA de *L. sidoides* e *S. aromaticum* com coeficiente angular ($b = 1142,86$ e $1685,71$) e coeficiente de determinação ($R^2 = 95$ e 85%), respectivamente, com os dados do CL₅₀ na Tabela 2, comprova-se que estes foram os extratos mais eficientes dentre os avaliados, inibindo 100% do crescimento micelial a partir da concentração de 0,15 mL mL⁻¹ (15%).

Ao analisarmos a esporulação de *F. pallidoroseum* na concentração dos EHAs a 0,05 mL mL⁻¹ (5%) (Figura 1) verificou-se que todos nesta concentração proporcionaram ao patógeno algum crescimento micelial (Figura 1), contudo o EHA de *Alliums ativum* foi

o que apresentou maior capacidade nesta concentração de inibir a produção das estruturas de reprodução do fungos, seus esporos, produzindo apenas $1,76 \times 10^6$ esporos mL^{-1} , seguido do extrato de *S. aromaticum* ($7,00 \times 10^6$ esporos mL^{-1}). Em contrapartida alguns EHAs como o de *Z. officinale* e *C. Nardus*, produzindo $20,43 \times 10^6$ e $17,40 \times 10^6$ esporos mL^{-1} , respectivamente, favoreceram a esporulação de *F. pallidoroseum* quando comparado com a testemunha ($16,93 \times 10^6$ esporos mL^{-1}).

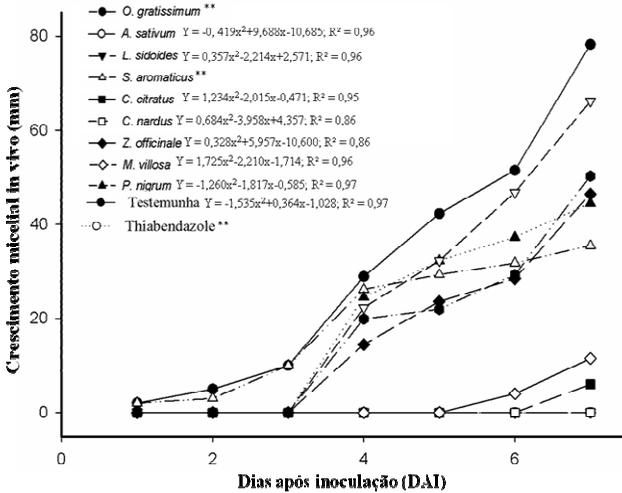
Figura 1 – Esporulação (quantidade de esporos $\times 10^6$ esporos por mL^{-1} de água) *in vitro* de *Fusarium pallidoroseum* submetidos à concentração de 0,05 ml mL^{-1} (5%) dos respectivos extratos. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



3.2 Ensaio *in vivo*

Ao inocular os frutos de melão com o patógeno e submetê-los ao tratamento com os EHAs na concentração 25 mL mL^{-1} (25%) através da análise de regressão, todos os tratamentos apresentaram comportamento quadrático em suas equações, notando crescimento progressivo do patógeno com o passar dos dias de incubação (Figura 2).

Figura 2 – Análise de regressão do crescimento micelial (mm) *in vivo* de *F. pallidoroseum* submetidos à concentração de 0,25 ml ml⁻¹ (25%) dos Extratos hidroalcoólicos (EHAs) em função dos dias após inoculação (DAI).



Nota-se então na Figura 2 que os EHAs que menos favoreceram o crescimento do patógeno foram *M. villosa*, *C. citratus*, *C. nardus* e *L. sidoides*, inibindo seu crescimento até o 5^a dia após a inoculação e incubação nos frutos, sendo que o EHA de *S. aromanticus* desfavoreceu totalmente o patógeno, não apresentando crescimento micelial (Tabela 4). Como pode ser visto na Tabela 4, cinco dos EHAs apresentaram comportamento semelhante à testemunha, não diferindo estatisticamente. Porém nota-se uma discreta eficácia destes e dos demais EHAs no controle *in vivo* de *F. pallidoroseum*.

Tabela 4 - Índice de Crescimento Micelial (ICM) *in vivo* de *Fusarium pallidoroseum* inoculados em frutos de melão e sub-metidos à concentração de 0,05 mL mL⁻¹ (5%) de cada EHAs.

EHAs*	ICM** (mm dia ⁻¹)
<i>O. gratissimum</i>	0,30 c
<i>A. sativum</i>	20,38 ab
<i>L. sidoides</i>	4,80 bc
<i>S. aromaticus</i>	0,00 c
<i>C. citratus</i>	15,62 ab
<i>C. nardus</i>	3,55 bc
<i>Z. officinale</i>	22,50 a
<i>M. villosa</i>	24,32 a
<i>P. nigrum</i>	18,34 ab
Testemunha	32,10 a
Thiabendazole	0,00 c

*EHAs = Extratos Hidroalcoólico Vegetal;

**ICM = Índice de Crescimento Micelial; Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4 CONCLUSÕES

Os extratos de alecrim pimenta e cravo da índia apresentaram-se como os mais eficazes nos testes *in vitro*, inibindo em 100% o crescimento do patógeno a partir da concentração de 10%. Nos testes *in vivo* a concentração de 25% os extratos de alfavaca, alecrim pimenta e cravo-da-índia inibiram a doença em 100% até o 7º dia de incubação.

ACTIVITY OF EXTRACTS PLANT IN THE CONTROL OF
Fusarium pallidoroseum (Cooke) Sacc IN MUSKMELON

Abstract - The objective of this study was to evaluate in vitro and in vivo the fungicide activity of hydroalcoholic plant extracts in the control of Fusarium pallidoroseum in melon fruits. For the in vitro assay were used concentrations of 0,0; 0,05; 0,10; 0,15; 0,20 e 0,25 mL mL⁻¹; in other words, 5; 10; 15. 20 and 25%, respectively of each extract per ml of culture medium. The experiment was conducted under controlled conditions at 28 ± 2 ° C and a photoperiod of 12 h in fully randomized design with eleven treatments and five repetitions. The inhibition and the rate of mycelial growth of the pathogen as well as the inhibitory concentration of mycelial growth at 50% of each treatment were evaluated. For the in vivo assay were used melon fruits which were inoculated and treated in the concentration of 25% of each extract and incubated under conditions of 28 ± 2 ° C e UR de 52 ± 2%. The extracts of L. sidoides and S. aromaticus presented themselves as the most effective in in vitro assay, with inhibition of 100% of the pathogen growth at concentrations of 10%. In the in vivo essay, the concentration of 25% extracts of O. gratissimum, L. sidoides and S. aromaticus inhibited the disease by 100% during the 7 day of incubation period.

Keywords: Melon. Alternative control. Fusarium-rot.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, T. F.; CAMARGO, M.; PANIZZI, R. C. Efeito de extratos de plantas medicinais no controle de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da flor preta do morangueiro. In: **Summa Phytopathological**, v. 35, n. 3, p. 196-201, 2009.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. In: **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p. 223-253. 2004.

BRASIL, M. A. S. et al. Custos do cultivo do melão amarelo na safra 2006/2007: Um estudo de caso na empresa Santa Júlia Agro Comercial Exportadora de Frutas Tropicais Ltda. In: **Custos e @gronegocio on line**, v. 4, p. 125-146, 2008.

BEN JEMÂA et al. Seasonal variations in chemical composition and fumigant activity of five Eucalyptus essential oils against three moth pests of stored dates in Tunisia. In: **Journal of Stored Products Research**, v. 48, p. 61-67, 2012.

COSTA, M.H.D. **Utilização de extratos de *Lippia* spp. e de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de *Phytophthora* sp. *in vitro***. 2003. 40 p. Monografia (Graduação) □ Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2003.

COX, S. D. et al. The mode of antimicrobial action of essential oil of *Melaleuca alternifolia* tea tree oil. In: **J. Appl. Microbiol.** v. 88, n.1, p.170-175, 2000.

DIAS, R. C. S.; TERAPO, D. Doenças das cucurbitáceas. In: OLIVEIRA, S.M.A. et al. In: **Patologia Pós-Colheita: Frutas, Olerícolas e Ornamentais Tropicais**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 595-627, 2006.

FATEMI, S. et al. Effect of essential oils of *Thymus vulgaris* and *Mentha piperita* on the control of green mould and postharvest quality of *Citrus Sinensis* cv. Valencia. In: **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 66, p. 14932-14936, 2011.

FONTENELLE, R. O. S. et al. Chemical composition, toxicological aspects and antifungal activity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. In: **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 59, p. 934-940, 2007.

GARCIA, R.A. et al. Atividade antifúngica de óleos e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. In: **Bioscience Journal**, v.28, n.1, p.48-57, 2012.

GADELHA J. C. **Controle preventivo e curativo da podridão pós-colheita de frutos de melão com produto alternativo**. 37f. 2009. Dissertação. (Mestrado em Agronomia) □ Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2002.

GARCIA, R.A. et al. Atividade antifúngica de óleos e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. In: **Bioscience Journal**, v.28, n.1, p.48-57, 2012.

GUPTA, A., SHARMA, S.; NAIK, S. N. Biopesticidal value of selected essential oils against pathogenic fungus, termites, and nematodes. In: **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.65, p.703-707, 2011.

GUYNOT, M. E. et al. Antifungal activity of volatile compounds generated by essential oils against fungi commonly causing deterioration of bakery products. In: **Journal of Applied Microbiology**. v. 94, n. 5, p. 893-899, 2003.

HENNEBELLE, T. et al. Ethnopharmacology of *Lippia alba*. In: **Journal of Ethnopharmacology**, v. 116, p.211-222, 2008.

KHAN, M. S. A.; AHMAD, I. In vitro antifungal, anti-elastase and anti-keratinase activity of essential oils of Cinnamomum-, Syzygium- and Cymbopogon-species against *Aspergillus fumigatus* and *Trichophyton rubrum*. In: **Phytomedicine**, v. 19, p. 48-55, 2011.

LINDE, J. H. et al. Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Lippia rehmannii* from South Africa. In: **South African Journal of Botany**, v. 76, p. 37-42, 2010.

MONTES-BELMONT, R. et al. Propriedades antifúngicas em plantas superiores: análise retrospectivo de investigaciones. In: **Revista Mexicana de Fitopatologia**, v. 18, n. 2, p. 125-131, 2000.

OLIVEIRA, D. R. et al. Ethnopharmacological study of two *Lippia* species from Oriximina, Brazil. In: **Journal of Ethnopharmacology**, v. 108, p. 103-108, 2006.

PORTILLO-RUIZ, M. C. et al. Antifungal activity of mexican oregano (*Lippia berlandieri* Shauer). In: **Journal of Food Protection**, v. 68, p. 2713-2717, 2005.

RANASINGHE, L.; JAYAWARDENA, B.; ABEYWICKRAMA, K. Fungicidal activity of essential oil of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) L. M. Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. In: **Letters in Applied Microbiology**, v. 35, p. 208-11, 2002.

SALGADO, A.P.S.P. et al. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolares sorokiniana*. In: **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, p. 249-254, 2003.

STADNIK, M. J.; TALAMINI, V. Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas. In: STADNIK, M. J.; TALAMINI, V (Eds). **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis, CCA/UFSC. p. 45-62, 2004.

SANTOS, L. G. M. et al. Avaliação do potencial fungitóxico do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry (Cravo-da-india). In: **Tecnológica**, v. 11, n. 1, p. 11-14, 2007.

SILVA, M. B. Desenvolvimento de produtos à base de extratos de plantas para o controle de doenças de plantas. In: VENEZON, M.;

PAULA, J.R., PALINI, A. (Eds.). In: **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: EPAIG/CTZM, p. 221-246, 2005.

SILVEIRA, S. F. et al. Controle químico da queima de folhas e da mela de estacas de eucalipto, causadas por *Rhizoctonia* spp. In: **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 642-649, 2003.

SINGH, U.P. K. K.; KHARE, M. N.; SINGH, R. B. Effect of leaf extract of garlic on *Fusarium oxysporum*f. sp. *ciceri*, *Sclerotinia sclerotiorum* and on gram seeds. In: **Mycologia**, v. 71, p. 556-563, 1979.

TARIQ, V.N.; MAGEE, A.C. Effect of volatiles from garlic bulbs extracts on *Fusariumoxysporum* sp. *Lycopersici*. In: **Mycological Research**, v. 94.n.5. p.617-620, 1990.

TATSADJIEU, N. L. et al. Investigations on the essential oil of *Lippiarugosa* from Cameroon for its potential use as antifungal agent against *Aspergillus flavus* Link ex. Fries. In: **Food Control**, v. 20, p. 161-166, 2009.

TERAO, D. OLIVEIRA, M.A; VIANA, F.M.P, ROSSETTI, A.G; SOUZA, C.C.M. Integração de fungicidas à refrigeração no controle de podridão em frutos de meloeiro. In: **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n.1, p. 89-93, 2006.

VIANA, F. M. P. et al. Recomendações para o controle das principais doenças que afetam a cultura do melão na região Nordeste. In: **Embrapa Agroindústria Tropical**, Circular Técnica n° 12, p. 6, 2001.