

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA INIBIÇÃO DA ANTRACNOSE DO MARACUJAZEIRO COM A UTILIZAÇÃO DO ÓLEO DE PUPUNHA (*Bactris gasipaes*).

EVALUATION OF THE EFFECT OF ANTHRACNOSE ON PASSION FRUIT WITH THE USE OF PUPUNHA OIL (*Bactris gasipaes*).

Rychaellen Silva de Brito^{1*}, William Ferreira Alves¹, José Genivaldo do Vale Moreira¹

1. Universidade Federal do Acre (UFAC)

*Autor correspondente: rychaellenbrito@gmail.com

Recebido: 04/10/2017; Aceito 10/11/2017

RESUMO

Os extratos oriundos de produtos vegetais tem sido uma das principais fontes de estudo em teste que visam a eficácia no controle de doenças em plantas visando como benefício a menor utilização de agrotóxicos, mediante a isto, a utilização de óleos mostrou-se um dos principais métodos alternativos para controle de doenças de plantas. Portanto, o objetivo deste projeto foi verificar se o óleo da pupunha apresenta efeito fungitoxico sobre o fungo causador da antracnose no maracujá. Utilizando-se da metodologia de isolamento e replicação do patógeno, coletando frutos com sintomatologia característica, isolando-os e replicando-os em meio de cultura (MC) composto por BDA (Batata, Dextrose e Ágar). Após haver a replicação, os fungos foram tratados em MC de 200mL com as doses de 0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mL.L-1 do óleo. Acompanhados durante quatro dias, tempo equivalente a testemunha ter toda sua placa coberta pelos micélios. Os resultados obtidos foram colocados em formulas, efetivando cálculos de índice de crescimento micelial (ICM) e porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC). Quando avaliado o efeito fungitoxico, observou-se que, de acordo com o aumento das dosagens, houve redução no ICM e do PIC, destacando as concentrações 50 a 75 µL/mL, por apresentar maior potencial de inibição do patógeno estudado, entretanto, este potencial não se diferencia estatisticamente dos demais. Apesar dos resultados não terem mostrado diferença significativa, podemos evidenciar que o óleo da pupunha apresenta um caráter de inibidor, visto que, em análise da curva de regressão, mesmo em pequenas concentrações apresenta sim potencial inibidor.

Palavras-Chave: Fito patógeno; Antracnose; Controle Alternativo e Inibição.

ABSTRACT

The extracts from vegetable products have been one of the main sources of study in test that aim at the effectiveness in the control of diseases in plants aiming as a benefit the less use of pesticides, by means of this, the use of oils has proved to be one of the main methods alternatives for controlling plant diseases. Therefore, the objective of this project was to verify if the pupunha oil has a fungitoxic effect on the fungus that causes anthracnose in passion fruit. Using the isolation and replication methodology of the pathogen, it collected fruits with characteristic symptomatology, isolating them and replicating them in a culture medium (MC) composed of BDA (Potato, Dextrose and Agar). After replication, the fungi were treated in MC of 200 mL with the doses of 0; 0.5; 1.0; 1.5 and 2.0 mL.L-1 of the oil. Accompanied for four days, time equivalent to witness having his whole plate covered by the mycelia. The obtained results were put in formulas, effecting calculations of mycelial growth index (ICM) and percentage of inhibition of mycelial growth (PIC). When evaluated the fungitoxic effect, it was observed that, according to the increase of the dosages, there was a reduction in the ICM

and of the PIC, highlighting the concentrations 50 to 75 $\mu\text{L} / \text{mL}$, since it presents greater potential of inhibition of the pathogen studied, however, this potential is not statistically different from the others. Although the results showed no significant difference, we can show that the pupunha oil has an inhibitory character, since in analysis of the regression curve, even in small concentrations, it has a potential inhibitory effect.

Keywords: Phytogetic Phenotype, Anthracnose, Alternative Control and Inhibition.

1. INTRODUÇÃO

O maracujá é uma das frutas tropicais mais bem apreciadas pelo consumidor brasileiro, além de sua polpa ser de grande aceitação no mercado nacional e internacional [1], o fruto ainda apresenta um rico potencial em sais minerais e vitaminas, destacando-se as vitaminas A e C [2]. Por ser um fruto climatérico, e apresenta um aumento na sua taxa respiratória e síntese de etileno durante a fase de maturação o que provoca alterações em suas características físicoquímicas [3]. Algumas dessas alterações podem ser citadas como a perda de matéria fresca e a fermentação da polpa, o que torna os frutos susceptíveis ao ataque de fungos e não agradam o consumidor em geral [4].

As doenças provocadas por diversos agentes fito patogênicos têm gerado significativas perdas na produção, reduzindo assim o fornecimento de alimentos para a população [5].

Segundo Brum [6], mediante os diversos fatores que causam a redução na produção de alimentos, destacam-se as doenças fúngicas. Antracnose causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* é a

doença que mais causa danos a cultura do maracujá, atacando a parte aérea da planta seja em qual for seu período vegetativo, sendo, portanto, de difícil controle, podendo os sintomas aparecerem no amadurecimento do fruto [7-9].

Da mesma maneira, Sousa [10], relatam que, o fungo causador da antracnose se desenvolve em diferentes culturas causando assim prejuízos elevados em diferentes famílias botânicas.

A antracnose está disseminada de forma generalizada em todas as regiões de cultivo do maracujá-amarelo no Brasil devido a seu inóculo sobreviver em restos de culturas já estabelecidas anteriormente, principalmente naquelas onde ocorrem estações quentes e chuvosas devido a altas variações [2].

Os prejuízos causados pelo gênero *Colletotrichum*, em especial nos países tropicais, resultam tanto na redução direta da qualidade e/ou quantidade dos produtos, como no aumento dos custos de produção e de pós colheita onde as infecções latentes não foram detectadas durante o cultivo, podendo ainda gerar uma perda total da cultura se a severidade não for controlada a tempo [11].

Para enfrentar a ameaça constante dos fito patógenos, a agricultura amazônica tem

utilizado diversas medidas de controle de forma alternativa para doenças que minimizem a contaminação ambiental, visando sistemas agrícolas autossustentáveis. Essa mudança de visão tem por base o manejo adequado dos recursos naturais, no sentido de reduzir a utilização de produtos químicos e de estimular a utilização de substâncias naturais nos sistemas agrícolas [12].

Seguindo neste sentido, o aumento da produção de alimento sem utilização de agrotóxico, acaba sendo um desafio. Sendo assim, a utilização de óleos essenciais apresenta-se muito promissora. Os óleos essenciais têm se mostrado um dos principais métodos alternativos para controle de doenças de plantas [13], uma vez que apresentam ação fungitóxica [14-15].

Para tanto, objetivou-se investigar dentre as dosagens do óleo de pupunha, qual apresentava potencial de inibição sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, como medida alternativa ao uso de defensivos agrícolas no controle da antracnose do maracujá.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 OBTENÇÃO E CONSERVAÇÃO DO PATÓGENO

A antracnose causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, é uma das

principais doenças fúngicas de pós-colheita. Em que o fungo foi isolado do maracujá que apresentou sintomas da doença (lesão da antracnose), o fruto infectado foi obtido na cidade de Cruzeiro do Sul, Acre.

Para este experimento utilizamos a metodologia de isolamento de fungos descrito por Abreu[9], que consiste em:

Imergir o fruto numa solução a 1,5% de hipoclorito de sódio por dois minutos; depois com um bisturi flambado, feito um corte na área afetada e a incisão pressionada para facilitar a abertura do corte no fruto; em seguida com auxílio de um estilete foi retirados os fragmentos da região de transição da lesão (área entre o tecido sadio e doente) efetuando-se o plaqueamento em meio de cultura BDA (batata dextrose e ágar), onde foram colocados quatro fragmentos por placa, sendo estes distribuídos equidistantemente. As culturas foram incubadas em temperatura ambiente de 25°C e sob luz fluorescente, no laboratório de fitopatologia da Universidade Federal do Acre. A avaliação do crescimento micelial foi realizada 15 dias após a incubação, medindo-se o diâmetro das colônias das placas semeadas com auxílio de um paquímetro analógico.

O óleo de pupunha utilizado nesse estudo foi adquirido também na cidade de Cruzeiro do Sul.

2.2 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

Para a realização desse projeto foram utilizados os seguintes tratamentos: Uma testemunha (crescimento micelial em meio de cultura sem a presença do óleo); e doses de 0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mL.L⁻¹ do óleo de pupunha, sendo que cada dose foi incorporada a 200 mL de meio de cultura BDA (Batata, Dextrose e Ágar); para assim definir o efeito do óleo sobre o crescimento micelial do fitopatógeno. Em uma capela de fluxo laminar, doses do óleo foram adicionadas ao meio de cultura BDA, fundente e vertidas em placas de Petri de 9 cm previamente esterilizadas. Após cerca duas horas um disco contendo o micélio do fungo medindo 5 mm de diâmetro, foi depositado no centro de cada placa. O mesmo procedimento foi realizado com a testemunha. As placas foram seladas com papel aderente, identificadas e incubadas em BOD sob fotoperíodo de 12 horas à temperatura de 25 °C por quatro dias.

2.3 AVALIAÇÃO DAS VARIÁVEIS

As avaliações foram realizadas por meio de observações diárias, fazendo a medição do diâmetro das colônias, média de duas medidas diametralmente opostas, iniciadas 24 horas após instalação do experimento e perdurarão até o momento em que a primeira colônia fúngica do tratamento testemunha alcançou seu desenvolvimento máximo na superfície do meio de cultura da placa de petri.

Para o cálculo de índice de crescimento micelial (ICM) ou taxa de crescimento micelial (TCM), foi utilizada fórmula adaptada por Salgado [16] que diz, que as variáveis contidas na equação para o cálculo do índice de crescimento micelial (ICM) são as avaliações do crescimento micelial do primeiro até o último dia (C1, C2, C3, C4...,Cn) e número do dia da avaliação (N1, N2, N3, N4...,Nn). Dado por:

$$ICM = \frac{C1}{N1} + \frac{C2}{N2} + \dots + \frac{Cn}{Nn}$$

Para o cálculo da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) foi utilizada a metodologia proposta por Garcia [17], onde o diâmetro da testemunha (DT) e o diâmetro do tratamento químico (DTRAT) são as variáveis envolvidas. Dado por:

$$PIC = \frac{DT - DTRAT}{DT} \times 100$$

2.4 AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA

Os ensaios foram conduzidos segundo delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições por tratamento e o teste de controle da testemunha. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com teste “F”, e análise de regressão quando significativo, avaliando-se linha de tendência e “R2” [18].

3. RESULTADO E DISCUSSÃO

Quando avaliado o efeito fungitoxico das doses do óleo da pupunha (*bactris gasepae*), observou-se que, de acordo com o aumento das dosagens, verifica-se uma redução do ICM (índice de crescimento micelial), com destaque para as concentrações

50 a 75 $\mu\text{L}/\text{mL}$, que houve maior potencial de inibição do patógeno estudado, entretanto, este potencial não se diferencia estatisticamente dos demais (TABELA 1). Assim, os resultados convergem para a decisão de que, a partir de uma pequena concentração, o óleo consegue apresentar potencial efeito inibidor.

Tabela 1: efeito das doses da pupunha na redução do ICM (índice de crescimento micelial) e PIC (porcentagem de inibição do crescimento micelial)

Dose ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	IMC	PIC
0	15,36	-
25	13,71	10,79
50	12,52	18,50
75	12,39	19,36
100	12,70	17,36

Em relação à porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC), verificou-se que as dosagens que mais se destacaram foram as 50 a 75 $\mu\text{L}/\text{mL}$, sendo que a 75 $\mu\text{L}/\text{mL}$ foi a que mais se destacou frente as demais utilizadas.

O potencial de inibição de óleos essenciais pode ser comprovado em diversos trabalhos com estratos e óleos essenciais como óleo de mururu (*Astrocaryum ulei* Mart.) e coco (*Cocos nucifera* L.) [9], os quais foram

testados e apresentaram grande potencial para o controle dos fito patógenos [19-21].

Pesquisas evidenciaram que plantas com propriedades medicinais, podem corresponder às expectativas de fungos fitopatogênicos tanto diretamente como por meio de indução de alguns mecanismos de defesa de plantas [22-23].

Abreu [24] demonstraram que o óleo proveniente dos frutos do mururu apresentou potencial inibidor do crescimento micelial de *Colletotrichum gloesporioides* isolado de

frutos de mamão, evidenciando-se, assim, que óleos essenciais são capazes de inibir o crescimento de um agente fitopatogênico. Este fato foi verificado, ainda, com o óleo proveniente do coqueiro em trabalho realizado por Souza [10], quando demonstrou que a atividade antimicrobiana sobre *C. gloeosporioides*, isolado de frutos de pimenta, inibe o crescimento micelial do patógeno de

acordo com o aumento da concentração das doses utilizadas.

Tendo como base a análise de regressão, verificou-se que o óleo de pupunha apresenta um potencial inibidor contra a antracnose a partir de um $\mu\text{L/mL}$, sendo que seu potencial de inibição se equipara ao valor esperado para cada concentração (Figura 1)

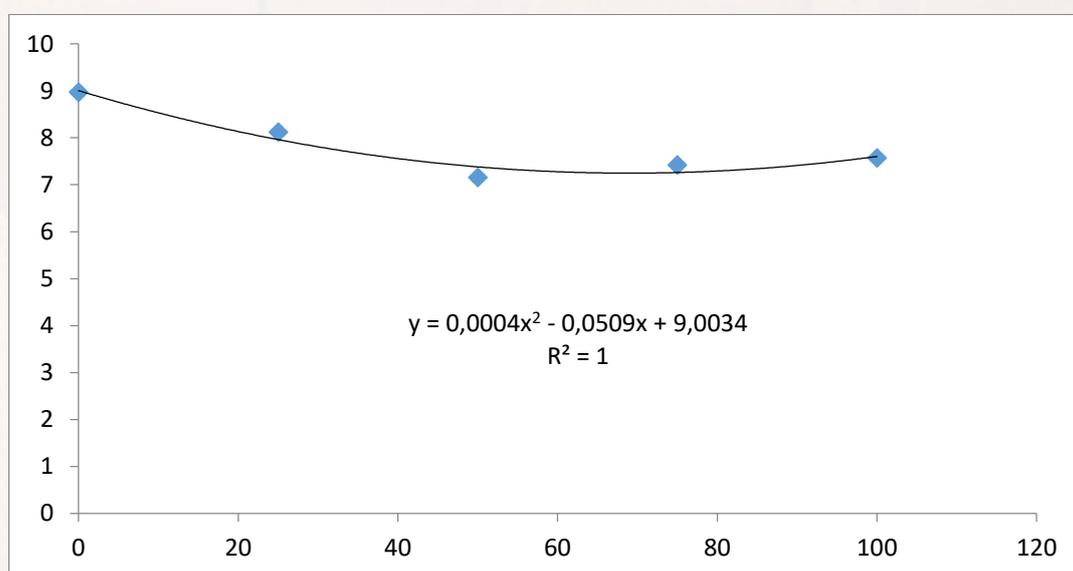


Figura 1: Análise de regressão para efeito de doses do óleo pupunha sobre o crescimento micelial de antracnose: $y = 0,0004x^2 - 0,0509x + 9,0034$, $R^2 = 1$.

Pode-se, por meio dos resultados postos, destacar que entre as concentrações 50 e 75 foi possível haver uma maior inibição do crescimento micelial. Comprovando assim um potencial de inibição mesmo em baixas concentrações.

No trabalho feito por Souza Júnior [25] é destacada a inibição de 100% de germinação de esporos do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, com a utilização dos óleos essenciais (alecrim-pimenta, alfavaca-cravo,

capim santo, cidrão e goiaba). Já o trabalho de Costa [26], que faz uso de óleos essenciais de condimentos (orégano, alecrim, manjericão, menta e cebola), assegura a existência de inibição do crescimento dos fungos (*Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. ochraceus*, *Fusarium* sp.) à medida que se aumenta a concentração desses óleos.

4. CONCLUSÃO

Apesar dos resultados não terem mostrado diferença significativa entre os tratamentos podemos evidenciar que o óleo da pupunha apresenta sim, caráter de inibidor visto que, quando se analisa a curva de regressão, estima-se que o mesmo, em pequenas concentrações, pode apresentar potencial de inibição.

REFERÊNCIAS.

01. CAVICHIOLI, J. C.; RUGGIERO, C.; VOLPE, C. A. Caracterização físico-química de frutos de maracujazeiro-amarelo submetidos á iluminação artificial, irrigação e sombreamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 3, p. 649-656, set. 2008.
02. LIMA, A. de A. Maracujá produção: aspectos técnicos. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, 2002. p. 103.
03. VIANNA SILVA, T.; RESENDE, E. D.; VIANA, A. P.; PEREIRA, S. M. de F.; CARLOS, L. de A.; VITORAZI, L. Qualidade do suco de maracujá-amarelo em diferentes épocas de colheita. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 3, p. 545-550, jul./set. 2008.
04. RESENDE, J.M.; VILAS BOAS, E.V.B.; CHITARRA, M.I.F. Uso de atmosfera modificada na conservação pós-colheita do maracujá-amarelo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.25, n.1, p.159-168, jan./fev. 2001.
05. TALAMINI, V., STADNIK, M. J. 2004. Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas. In: Stadnik, M. J.; Talamini, V. (Eds). Manejo ecológico de doenças de plantas. **Editora UFSC**, Florianópolis, Brasil, p.143-157.
06. BRUM, R. B. C. S. Efeito de óleos essenciais no controle de fungos fitopatogênicos. Gurupi-TO: **UFT**, 2012.
07. ALVAREZ, A. M.; NISHIJIMA, W. T. Postharvest diseases of papaya. **Plant Disease**, v.71, n.7, p.681-6, 1987.
08. VENTURA, J.A. Táticas de controle no manejo integrado de doenças. In: Encontro Nacional sobre Fruticultura de Clima Temperado, 2., 1999, **Fraiburgo. Anais. Fraiburgo**: UnC/EPAGRI/PMF, 1999. p.139-43
09. ABREU, M. G. P.; TAVELLA, L. B.; FERREIRA, J. B.; ARAUJO, M. L.; ARAUJO, J. M. 2014. Potencial fungitoxico dos óleos de murmuru (*Astrocaryum ulei mart.*) e coco (*Cocos nucifera L.*) sobre *Colletotrichum gloeosporioides* no maracujá. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.10, n.19; p.1515, 2014
10. SOUSA, R. M. S; SERRA, I. M. R.S; MELO, T. A. Efeito de óleos essenciais como alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, em pimenta. **Summa Phytopathol**, Botucatu, v. 38, n. 1, p. 42-47, 2012
11. DIAS, M. S. C. Principais doenças fúngicas e bacterianas do maracujazeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.21, n.206, p.34-38, set./out. 2000
12. BENCHIMOL, R. L.; SILVA, C. M.; VERZIGNASSI, J. R. 2008. Utilização de substâncias naturais para o controle de doenças de plantas na região amazônica – Belém – PA: **EMBRAPA AMAZONIA ORIENTAL**. 27p (EMBRAPA AMAZONIA ORIENTAL. DOCUMENTO 346)

13. STANGARLIN, J.R. et al. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.2, n.11, p.16-24, 1999.
14. FIORI, A. C. G.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; SCAPIM, C. A.; CRUZ, M. E. S.; PASCHOLATI, S. F. Antifungal Activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. **Journal of Phytopathology**, 148, p. 483-487, 2000.
15. BONALDO, S.M. et al. **Fungitoxicity, phytoalexins** elicitor activity and protection of cucumber against *Colletotrichum lagenarium*, by *Eucalyptus citriodora aqueous extract*. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.2, p.128-134, 2004.
16. SALGADO, A.P.S.P.; CARDOSO, M.G.; SOUZA, P.E.; SOUZA, J.A.; ABREU, C.M.P.; PINTO, J. E. B. P. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolares sorokiniana*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, p. 249-254, 2003.
17. GARCIA, R. A.; JULIATTI, F. C.; BARBOSA, K. A. G.; CASSEMIRO, T. A. Atividade an-tifúngica de óleo e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 1, p. 48-57, 2012.
18. FERREIRA, D. F. SISVAR: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
19. TAKATSUKA, F. S.; SILVA, I. D.; OLIVEIRA, M. F.; CZEPAK, C.; OLIVEIRA, C. M. A.; CUNHA, M. G. 2003. Efeito do óleo essencial de açafrão (*Curcuma longa*) sobre o desenvolvimento micelial de fungos. **36º Congresso Brasileiro de Fitopatologia**, Uberlândia, Brasil, v.28, p.361.
20. BALBI-PEÑA, M. I.; BECKER, A.; STANGARLIN, J. R.; FRANZENER, G.; LOPES, M. C.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. 2006. Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de Cúrcuma longa e curcumina – I. Avaliação in vitro. **Fitopatologia Brasileira**, 1: 1014.
21. PEREIRA, F.A.; CARNEIRO, M.R.; ANDRADE, L.M. (Ed.). A cultura do maracujá. Brasília, DF: **Embrapa Informações Tecnológicas**, 2006, 124p.
22. MESQUINI, R. M.; SCHWAN-STRADA, K. R. F.; NASCIMENTO, J. F.; BALBI-PENA, M. I.; BONALDO, S. M. Efeito de produtos naturais na indução de fitoalexinas em cotilédones de soja e na germinação de urediniosporos de *Phakopsora pachyrhizi*. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Guarapari, v. 2, n. 2, out. 2007.
23. SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. da S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**. Maringá, v. 30, n. 2, p. 129-137, 2002.
24. ABREU, M. G. P.; FERREIRA, J. B.; NASCIMENTO, G. O.; NEVES, Y. Y. B.; NASCIMENTO, L. O.; FIGUEIREDO, A. L. V. 2012. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. In: 45o Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2012, Manaus. Anais, **Tropical Plant Pathology**, 2012. v. 37, CD-ROM
25. SOUZA JÚNIOR, I. T.; SALES, N. L. P.; MARTINS, E. R. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre o *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro-amarelo. **Biotemas**, Trindade, v. 22, n.32, p. 77 - 83, set. 2009
26. COSTA, R.V.; CASELA, C.R.; ZAMBOLIM, L.; FERREIRA, A. S. A Antracnose do Sorgo. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v. 28, p. 345-354, 2003.