

SOBREVIVÊNCIA DE ESCLERÓDIOS DE *Sclerotium rolsii* SUBMETIDOS AOS TRATAMENTOS COM EXTRATOS VEGETAIS.

¹Flaviana Andrade Faria, ²Marli de Fátima Stradioto Papa, ³César Júnior Bueno. ¹Discente da Agronomia - FE, ²Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos – Agronomia - Faculdade de Engenharia - Campus de Ilha Solteira/SP. ³Pesquisador Científico da APTA - Pólo Regional Extremo Oeste – Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Araçatuba/SP.

Os fungos fitopatogênicos habitantes do solo produzem estruturas de resistência que garantem a sobrevivência dos mesmos no solo por vários anos frente a situações adversas, tais como: ausência da planta hospedeira e/ou condições climáticas desfavoráveis (AMORIM, 1995). Esses fitopatógenos, uma vez introduzidos em áreas cultivadas, tornam-se um grande problema fitossanitário, pois suas estruturas de resistência são de difícil controle.

Dentre os fungos fitopatogênicos habitantes do solo, podemos citar o *Sclerotium rolsii*, descrito pela primeira vez em 1892 por AYCOCK (1966). Este fungo causa podridão em raízes, colo de plantas jovens, em sementes, danos em plântulas, folhas e frutos, em muitas plantas hospedeiras, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais, acarretando perdas consideráveis para os produtores (BEDENDO, 1995; FARR et al., 1989; PUNJA, 1985). Além de produzir micélio vigoroso e com grampos de conexão nas hifas, este fungo produz escleródios globosos, pequenos, de 0,5-1,5 mm de diâmetro e, quando maduros, são de coloração amarronzada (AYCOCK, 1966; BIANCHINI et al., 1997).

A utilização de cultivares resistentes é a melhor opção de controle para estes fitopatógenos. No entanto, ainda há culturas que não se têm cultivares resistentes a determinados fungos de solo e, mesmo culturas que há cultivares resistentes, essas estão sujeitas a quebra de resistência, devido a variabilidade genética destes fitopatógenos. Devido a proibição do uso do brometo de metila na agricultura (GHINI, 2001) e da baixa eficiência de outros fungicidas, há a necessidade de se buscar novas alternativas de controle para estes patógenos. No Brasil, tem-se uma flora imensa e bem diversificada, que deve ser explorada na investigação de plantas que podem possuir atividade fungitóxica. Esta exploração pode culminar no desenvolvimento de um fungicida natural ou na descoberta de um novo princípio ativo que poderá ser produzido comercialmente por uma empresa de defensivos agrícolas.

A planta melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.), da família *Cucurbitaceae*, contém inúmeras propriedades medicinais. Na área agrônômica, essa planta apresenta os seguintes efeitos: a) inseticida para a lagarta *Spodoptera litura* Fabr. e para o pulgão *Aphis craccivora* Koch (AMNART & CHADIN, 1983); b) larvicida para o mosquito *Culex* sp. (SRIVASTAVA & NERALIYA, 1997) e c) nematocida para o nematóide *Meloidogyne incognita* (DIAS et al., 2000). Além disto, essa planta possui atividade antibacteriana detectada por ANWAR et al. (2000) e, também, atividade antifúngica já constatada sobre *Colletotrichum gloeosporioides* de mamoeiro (CELOTO et al., 2004), *Colletotrichum musae* (CELOTO et al., 2005) e sobre *Cercospora calendulae* Sacc. da calêndula (BACCHI et al., 2004).

A planta pacari (*Lafoensia pacari* St. Hil) pertence a família *Lythraceae* e é encontrada em Minas Gerais, São Paulo, Mato Grosso do Sul até Santa Catarina, nas florestas de altitude e no cerrado. Essa planta também apresenta atividade antibacteriana e antifúngica (NARUZAWA et al., 2005, ALVES et al., 2000).

De acordo com a revisão de literatura realizada, ainda não existe pesquisa com extratos das plantas de melão-de-são-caetano e de pacari, visando controle de estruturas de resistência de fungos fitopatogênicos habitantes do solo. Portanto, um projeto de pesquisa está sendo iniciado com o objetivo de verificar se ocorre inativação da estrutura de resistência do fungo fitopatogênico habitante do solo *Sclerotium rolsii*, utilizando extratos aquoso e hidroetanólico das plantas de melão-de-são-caetano e de pacari. Os ensaios foram realizados em condições de laboratório (*in vitro*) e de campo (*in vivo*). No presente resumo, constam apenas os dados do ensaio *in vitro*.

O experimento *in vitro* foi realizado no Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia no Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos – Agronomia – Faculdade de Engenharia – Campus de Ilha Solteira, da Universidade Estadual Paulista (UNESP).

Após a coleta das plantas de melão-de-são-caetano (folhas + ramos) e de pacari (folhas), as mesmas foram levadas para o laboratório e submetidas à lavagem, secagem, moagem e preparação dos extratos aquoso e hidroetanólico. Os extratos aquoso e hidroetanólico de cada planta foram utilizados nas concentrações de 100% (extrato puro) e 50 % (diluído em água).

As estruturas do fungo foram produzidas de acordo com a metodologia desenvolvida por Bueno (2004), em meio de BDA (Batata Dextrose Agar) + oxitetraciclina. Os escleródios formados foram colocados em bolsas de náilon (± 60 estruturas) e, em seguida, amarradas com linha tipo barbante. Duas bolsas foram colocadas dentro de cada frasco de vidro tipo Erlenmeyer contendo o extrato ou vazio (testemunha). Para cada época de avaliação da sobrevivência das estruturas do fungo (0, 5, 10, 15 e 30 dias), haviam dois frascos destrutivos, sendo estes frascos mantidos sempre em agitação constante (agitador mecânico) e em temperatura ambiente (20 a 30°C). No momento de cada avaliação, as estruturas foram removidas dos frascos e submetidas a tratamento de desinfestação, de acordo com a metodologia descrita por Bueno (2004). Após este processo, os escleródios foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura de BDA + oxitetraciclina, mantidas em estufa tipo BOD, a 25°C, por cinco dias. A avaliação consistiu na contagem das estruturas germinadas, caracterizadas pelo crescimento micelial típico do fungo. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, constituído por nove tratamentos, cinco épocas de avaliações e seis repetições. Cada repetição foi representada por uma placa de Petri contendo 10 escleródios semeados (Tabela 1).

Tabela 1. Percentagem de germinação de escleródios de *Sclerotium rolfsii*, avaliada em meio de cultura, após os mesmos permanecerem imersos durante 0, 10, 15 e 30 dias em extratos hidroetanólico e aquoso de melão-de-são-caetano e de pacari. Ilha Solteira, SP, 2006.

Tratamentos: Espécie vegetal - extrator – concentração	Dias de imersão dos escleródios nos extratos				
	0	5	10	15	30
Melão-de-são-caetano - hidroetanólico - 100%	100 ¹ a	0 a	0 a	0 a	0 a
Melão-de-são-caetano - hidroetanólico - 50%	100 a	0 a	0 a	0 a	0 a
Melão-de-são-caetano - aquoso - 100%	100 a	30 b	0 a	0 a	0 a
Melão-de-são-caetano - aquoso - 50%	100 a	35 bc	0 a	0 a	0 a
Pacari - hidroetanólico - 100%	100 a	63 d	52 b	23 b	0 a
Pacari - hidroetanólico - 50 %	100 a	72 d	57 b	23 b	0 a
Pacari - aquoso - 100%	100 a	53 cd	77 c	73 c	5 a
Pacari - aquoso - 50%	100 a	70 d	50 b	63 c	63 b
Testemunha	100 a	100 e	100 e	100 d	83 c

¹Mesma letra na coluna não difere entre si, ao nível de 5% de probabilidade, por meio do teste de Tukey.

Entre os extratos das plantas, independentemente de ser aquoso ou hidroetanólico e estar puro ou na concentração de 50%, constatou-se que os extratos de melão-de-são-caetano foram significativamente mais eficientes na inibição da germinação dos escleródios de *Sclerotium rolfsii* do que os de pacari. Escleródios mantidos durante cinco dias no extrato hidroetanólico de melão-de-são-caetano, independente da concentração, apresentaram 100% de inibição da germinação, enquanto o extrato aquoso de melão-de-são-caetano, independente da concentração, 100% de inibição da germinação foi constatada a partir dos 10 dias de imersão. Para os extratos de pacari (Pacari Hidroetanólico Puro; Pacari Hidroetanólico na concentração de 50% e Pacari Aquoso Puro), 100% de inibição da germinação das estruturas do fungo foi verificada somente aos 30 dias de imersão. O extrato aquoso de pacari, diluído em 50%, inibiu apenas 37% da germinação dos escleródios quando estes foram mantidos durante 30 dias de imersão.

A partir destes resultados conclui-se que:

- a) os extratos aquoso e hidroetanólico de folhas e ramos de melão-de-são-caetano são promissores para controlar as estruturas de resistência do fungo de solo *Sclerotium rolfsii*, mas o extrato hidroetanólico propicia controle bem mais precoce, demonstrando que o etanol consegue extrair melhor o(s) princípio(s) fungitóxico(s) desta planta;
- b) os extratos hidroetanólico puro e 50% diluído da planta de melão-de-são-caetano controlaram as estruturas do fungo já aos 5 dias de imersão, demonstrando que o extrato mesmo diluído, característica essa desejável, ainda manteve a atividade fungitóxica;
- c) o extrato aquoso de pacari não pode ser diluído, pois há perda da sua atividade fungitóxica;
- d) os resultados preliminares do projeto demonstram que há necessidade de mais estudos sobre a ação de extratos de plantas sobre *Sclerotium rolfsii* e, também, para outros fitopatógenos habitantes do solo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, T. M. A.; SILVA, A. F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T. S. M.; SMÂNIA, E. F. A.; SMÂNIA JÚNIOR, A.; ZANI, C. L. Biological screening of brazilian medicinal plants. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 95, n.3, p. 367-373, 2000.
- AMNART, T.; CHADIN, D. Insecticidal activity of organic substance in *Momordica charantia* L. **Kasetsart University**, Bangkok, 1983. p. 220-221.
- AMORIM, L. Sobrevivência do inóculo. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p. 246-266. v. 1: Princípios e conceitos.
- ANWAR, Z.; AYUB, N.; KHHAN, A.G. Antibacterial ability of extracts from arbuscular mycorrhizal roots of *Allium sativum* L. and *Momordica charantia* L. **Hamdard Medicus**, Paquistão, v. 43, n.1, 2000. p. 29-33.
- AYCOCK, R. Stem rot and other diseases caused by *Sclerotium rolfsii*. **North Carolina Agricultural Experimental Station Technical Bulletin**, Raleigh, n.174, 1966. 202 p.
- BACCHI, L.M.A.; NASCIMENTO, J.M.; GAVASSONI, W.L.; VIEIRA, M.C. Inibição *in vitro* de *Cercospora calendulae* por extratos de calêndula e melão-de-são-caetano. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, 2004. p. 233. (Resumo).
- BEDENDO, I. Podridões de raiz e colo. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p. 829-837. v. 1: Princípios e conceitos.
- BIANCHINI, A.; MARINGONI, A. C.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. 3ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p. 376-379. v. 2: Doenças das plantas cultivadas.
- BUENO, C.J. **Produção e preservação de estruturas de resistência de fungos fitopatogênicos habitantes do solo**. Botucatu, 2004. 101f. Tese (Doutorado) em Agronomia/Proteção de Plantas – Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista.
- CELOTO, M.I.B. **Atividade antifúngica de extratos de melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.) sobre *Colletotrichum musae* (Berk. & Curtis)** **Arx**. 2005. 74f. Dissertação (Mestrado)

em Agronomia/Sistemas de Produção – Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Ilha Solteira, 2005.

CELOTO, M.I.B. **Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides***. 2003. 44f. (Trabalho de graduação) – Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Ilha Solteira, 2003.

CELOTO, M.I.B.; PAPA, M.F.S.; SACRAMENTO, L.V.S. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 30, n.1, 2004, p.122 (Resumos).

DIAS, C.R.; SCHWAN, A. V.; EZEQUIEL, D.P.; SARMENTO, M.C.; FERRAZ, S. Efeito de extrato aquoso de plantas medicinais na sobrevivência de juvenis de *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 2, 2000, p. 203-210.

FARR, D. F. et al. **Fungi on plants and plant products in the United States**. St Paul: The American Phytopathological Society, 1989. 1252 p.

GHINI, R. Alternativas para substituir o brometo de metila na agricultura. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 162, 2001.

NARUZAWA, E. S.; PAPA, M. F. S.; SACRAMENTO, L. V. S. Atividade antifúngica de extratos de plantas de cerrado a *Corynespora cassicola* acerola. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 31, supl., 2005. p. 92-92 (Resumos).

PUNJA, Z. K. The biology, ecology and control of *Sclerotium rolfsii*. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 23, p. 97-127, 1985.

SRIVASTAVA, U.S.; NERALIYA, S. Larvicidal activity of plant extracts on filaria mosquito *Culex quinquefasciatus*. **Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B Biological Sciences**, India, v. 67, n. 2, 1997. p.111-115.