

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE EXTRATO DE CRAVO-DA-ÍNDIA E ALGODÃO DE SEDA SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini*

Marília Izabela Fernandes Rocha^{1*}, Leonardo Reis Quirino¹, Symone Costa de Castro², Flavia Fernandez Kruschewsky³, Leandro Santos Peixoto⁴, Yslai Silva Peixoto⁵

1. Estudante de IC em Engenharia Agrônômica do IF Baiano, *campus* Guanambi
2. Mestranda pela UFOB, Assistente de laboratório IF Baiano, *campus* Guanambi
3. Biomédica, Assistente de laboratório IF Baiano, *campus* Guanambi
4. Doutoranda pela UFLA, Professor do IF Baiano, *campus* Guanambi
5. Doutoranda pela UESC, Téc. de laboratório IF Baiano, *campus* Guanambi/Orientador

Resumo:

A cultura da mamoneira apresenta importância socioeconômica para o Semiárido baiano, e sofre grandes perdas de produção por causa da Fusariose, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f.sp. *ricini* (For). O objetivo do presente estudo foi a avaliar a atividade antifúngica do extrato de cravo-da-índia e algodão de seda sobre o crescimento micelial de For. O delineamento foi em DIC, com arranjo fatorial 2 x 5, com 3 repetições. Foram utilizados extratos aquosos de algodão de seda e cravo-da-índia, em meio BDA nas concentrações de 0%, 1%, 2,5%, 5% e 10%. Os extratos de algodão de seda não proporcionaram inibição em nenhuma das concentrações avaliadas. O extrato de cravo-da-índia proporcionou inibição do crescimento fúngico inversamente proporcional ao aumento da concentração do extrato e a concentração 10% inibiu 100% do crescimento micelial. Conclui-se que o cravo-da-índia apresenta atividade antifúngica contra For, sendo indicado para outros estudos sobre métodos de controle em campo.

Palavras-chave: Fusariose; *Syzygium aromaticum*; *Calotropis procera*

Introdução:

A agricultura está presente desde a antiguidade na vida dos seres humanos, esta é essencial para a sobrevivência e está implantada em todos os lugares do mundo. A cultura da mamoneira é de grande importância social e econômica para o Semiárido baiano. Dentre as doenças que afetam a cultura, está a Fusariose, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f.sp. *ricini*, os sintomas da doença são murcha da planta, decorrente da perda de turgescência dos tecidos, e amarelecimento de parte das folhas (ARAÚJO et al., 2007). Causando altas perdas na produção, principalmente nas regiões semiáridas, onde as condições climáticas e do solo favorecem o seu desenvolvimento (COSTA et al., 2012).

Diversas plantas medicinais têm sido avaliadas para o controle de doenças de plantas causadas por fungos, bactérias e nematóides, e no controle de pragas, como pulgões (NASCIMENTO et al., 2013). Dentre as espécies medicinais com capacidade no controle de patógenos destaca-se o cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*), que é explorada principalmente para extração industrial do óleo essencial obtido a partir dos botões florais, folhas e outras partes. Apresenta como seu principal componente o eugenol e possui em proporções menores o acetato de eugenol, β -cariofileno, entre outros compostos (SANTOS et al., 2007).

O algodão de seda (*Calotropis procera*) foi introduzida no Brasil como planta ornamental devido à beleza das flores e, posteriormente, tornou-se invasora de pastagens (LÁZARO et al., 2012). De acordo com Melo et al. (2001), diferentes partes dessa planta podem ser utilizadas para o tratamento de enfermidades na medicina indiana. Tem-se preparado fitoterápicos a partir do algodão de seda com efeitos analgésicos, anti-inflamatórios, agentes purgativos, anti-helmínticos, antimicrobianos, larvicidas, anticancerígenos, entre outros (LÁZARO et al., 2012).

Sendo assim, percebe-se que o uso de métodos alternativos, como extratos vegetais, para o controle de doenças e pragas na agricultura, visando minimizar os danos ao meio ambiente e à saúde pública é necessário. O controle alternativo com plantas medicinais é viável, em função de não apresentarem risco ambiental, serem geralmente inócuas aos animais e seres humanos, bem como apresentar menor custo (MOREIRA et al., 2008). O objetivo do presente estudo foi a avaliar a atividade antifúngica do extrato de cravo-da-índia e algodão de seda sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini*.

Metodologia:

Os bioensaios experimentais foram conduzidos no Laboratório de Fisiologia vegetal do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano – IF Baiano, *campus* Guanambi. A parcela experimental foi de oito placas de Petri, sendo adotado o delineamento inteiramente casualizado (DIC), em arranjo fatorial 2 x 5, com 3 repetições. Foram utilizados os extratos aquosos de algodão de seda (*Calotropis procera*) e cravo-da-índia, nas concentrações de 0%, 1%, 2,5%, 5% e 10%. Para realização de cada bioensaio foi utilizado o fungo *Fusarium oxysporum* f.sp. *ricini*, da Coleção de cultura de fungos fitopatogênicos “Prof. Maria Menezes” – CMM.

O algodão de seda foi coletado nas imediações do IF Baiano e o cravo-da-índia obtido no supermercado. Para obtenção do extrato, inicialmente foi realizada a desinfecção superficial de 30g do botão floral do cravo-da-índia e das folhas de algodão de seda em solução de hipoclorito de sódio a 2% por 2 minutos, lavagem em álcool 70% por um minuto, e tríplice lavagem em água deionizada. Após esse procedimento triturou-se os materiais vegetal no liquidificador com 120 mL de água destilada, sendo utilizados no mesmo dia.

A trituração o material foi filtrado em papel filtro qualitativo e recolhido em Erlenmeyer devidamente identificado. O filtrado foi adicionado ao meio de cultura BDA (Batata-dextrose-ágar) fundente, de modo a se obter as diferentes concentrações dos extratos a serem avaliados. O meio homogeneizado foi vertido em placas de Petri e, depois de sua solidificação, efetuou-se a repicagem do fungo retirados de colônias puras com sete dias de idade para o centro da superfície do meio de cultura com os respectivos tratamentos. Posteriormente, as placas de Petri foram vedadas com filme plástico e incubadas em câmara BOD a uma temperatura 25°C e fotoperíodo de 12 horas.

As avaliações foram mensuradas após 48 horas da repicagem e repetida a cada 48 horas, totalizando cinco épocas de avaliação. Determinou-se o crescimento micelial por meio da medida do diâmetro das colônias em dois sentidos diametralmente opostos em milímetros (mm) com o uso de um paquímetro digital. Os dados para calcular a taxa de crescimento foram plotados para obtenção de uma equação de regressão linear simples ($y = a + bx$), conforme procederam Benício et al. (2003), sendo o tempo (dias) a variável independente (x); o crescimento micelial (diâmetro final das colônias, mm) a variável dependente (y); e 'a' o diâmetro inicial das colônias. Foi realizado um fatorial duplo, onde os fatores foram dois extratos e cinco doses e a variável resposta foi a taxa de crescimento linear. As análises estatísticas foram realizadas no Software R (R CORE TEAM, 2016).

Resultados e Discussão:

Os extratos de folhas de algodão de seda não proporcionaram inibição do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. ricini (For) em nenhuma das concentrações avaliadas (Figura 1A). Já o extrato do botão floral de cravo-da-índia proporcional inibição do crescimento fúngico inversamente proporcional ao aumento da concentração do extrato (Figura 1B). A concentração 10% do extrato de cravo-da-índia inibiu 100% do crescimento micelial de *F. oxysporum* f. sp. ricini. Resultados semelhantes foram relatados por RozwaLka et al. (2008), que verificaram total inibição do crescimento de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides*, com o uso do extrato aquoso de cravo-da-índia na concentração de 10%.

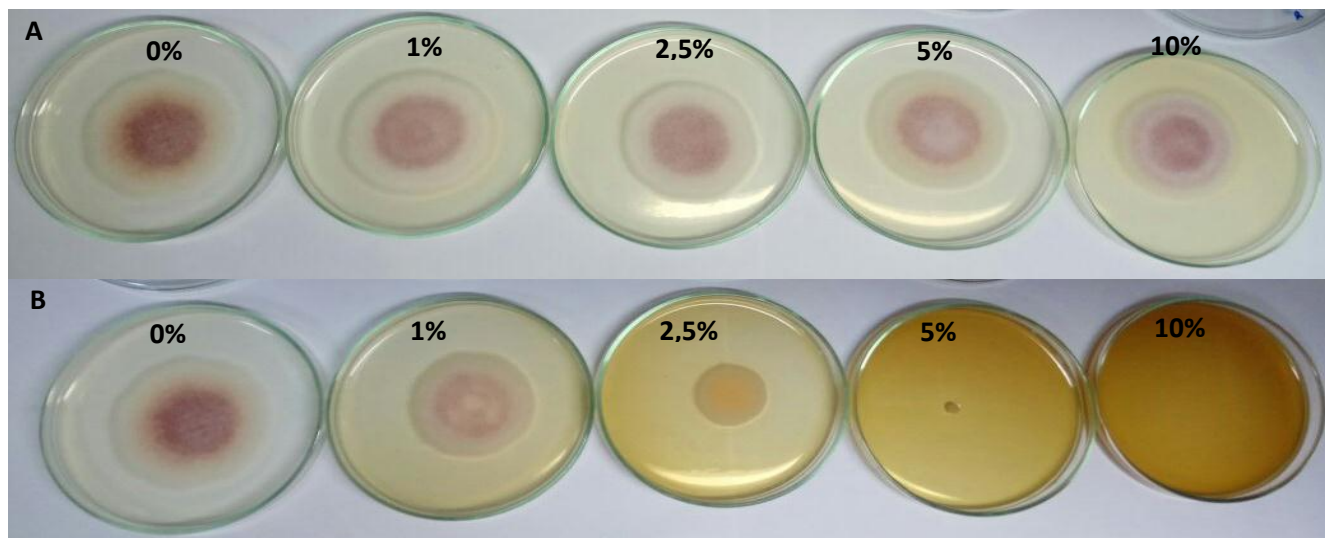


Figura 1. Crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. ricini em meio BDA (0%), com extrato de folhas de algodão de seda nas concentrações 1%, 2,5%, 5% e 10% (A) e de cravo-da-índia nas concentrações 1%, 2,5%, 5% e 10% (B).

Além da atividade antifúngica demonstrada pelo extrato aquoso de cravo-da-índia, foram observadas alterações na coloração das colônias fúngicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. ricini nas concentrações de 2,5% e 5%, pois estas se apresentam rosadas em meio BDA e no extrato aquoso de algodão de seda, e assumiram coloração alaranjada com o aumento das concentrações do extrato de cravo (Figura 1). Comportamento semelhante foi relatado por Franzener et al. (2003) que verificaram alterações morfológicas nas colônias de *Bipolaris sorokiniana*, sobretudo na cor, pois se apresentaram escuras, quase negras, em BDA, e assumiram coloração esbranquiçada com o aumento das concentrações do extrato aquoso de cânfora.

Na análise de variância observou-se que todas as variáveis analisadas foram altamente significativas, inclusive para a interação entre o extrato e as concentrações, isto indica estatisticamente que os extratos, as concentrações e a interação entre eles diferiram entre si. Diversos trabalhos com o uso de extratos de plantas têm sido apontados como eficientes no controle de doenças fúngicas. Produtos alternativos como extratos botânicos têm sido investigados, e serem de origem natural podem ser menos tóxicos ao homem e ao meio

ambiente (STANGARLIN et al., 1999). Esses produtos têm sido empregados de forma empírica por muitos agricultores familiares, que utilizam este sistema de cultivo com maior aproveitamento dos recursos naturais à sua disposição e de forma eficiente na inibição do desenvolvimento de vários fungos fitopatogênicos, sem provocar efeitos indesejáveis ao ambiente (BETTIOL, 1991)

Para a taxa de crescimento linear (Tabela 1), verificou-se que o extrato de algodão de seda não inibiu o crescimento de *Fusarium oxysporum* f. sp. ricini, inclusive na concentração 2,5% a média superou o tratamento controle (0%). Diferentemente do que foi observado no presente estudo, extratos aquosos de folhas de *C. procera* demonstraram significativa atividade contra o fungo *E. floccosum* em resultados obtidos por Kuta (2008). A atividade antifúngica de *C. procera* também foi verificada com o uso de extrato aquoso e solventes orgânicos de folha, casca e raiz contra *M. gypseum*, *Trichophyton rubrum* (HASSAN et al., 2006), extrato aquoso contra *Epidermophyton floccosum* e *Tricophyton gypseum* (KUTA, 2008), extrato aquoso de folhas contra *Fusarium oxysporum* (SHARMA E TRIVEDI, 2002), *F. monoliforme* e *Rhizoctonia solani* (AHMAD e SULTANA, 2003).

Tabela 1 – Valores médios, em milímetros, da taxa de crescimento linear do *Fusarium oxysporum* f. sp. ricini em meio de cultura BDA com dois extratos vegetais e cinco concentrações, Guanambi-BA, 2018.

Extratos	Concentração do extrato				
	0%	1%	2,5%	5%	10%
Cravo-da-índia	549,99a	384,18b	130,84b	5,56b	0,00b
Algodão de seda	549,99a	495,84a	567,51a	510,31a	515,41a

Letras iguais as colunas indicam que as medias não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Para as concentrações de cravo-da-índia verificou-se inibição do crescimento a medida que aumentava a concentração do extrato. Considerando-se alta atividade antifúngica dos extratos aquosos, quando os mesmos proporcionaram inibição igual ou superior a 50%, pode-se inferir que a partir da concentração de 2,5% o extrato de cravo-da-índia apresenta alta atividade antifúngica. Miguel et al. (2006) verificaram uma redução significativa do crescimento micelial de *Colletotrichum* spp. isolados de fruto de morangueiro, através da utilização de óleo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) misturado em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) nas concentrações de 0,25, 0,50, 0,75 e 1,0%. De acordo com Ranasinghe et al. (2002), o eugenol presente no cravo da índia pode ser o componente tóxico, tanto no extrato aquoso quanto no óleo essencial.

Observa-se pelo gráfico de regressão (Figura 2) que a inibição causada pelos extratos de cravo-da-índia ocorreu de forma inversamente proporcional ao aumento da concentração do extrato. Corroborando com os resultados citados anteriormente, observa-se os extratos de algodão de seda não apresentaram atividade antifúngica. Venturoso (2010) demonstrou que o extrato de cravo da índia proporcionou inibição em diferentes espécies de fungos com concentrações acima de 7,1%. Souza et al. (2006), em seus estudos com extrato de cravo da índia, *Syzygium aromaticum* L., determinaram que concentrações de 2000 e 3000 ppm inibiram em 100% o crescimento micelial dos fitopatógenos testados.

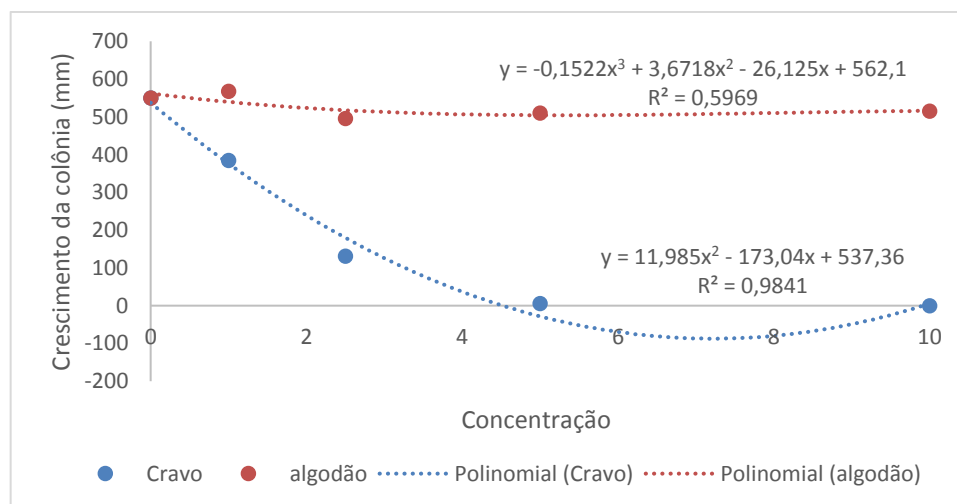


Figura 2. Gráfico de regressão de dois extratos vegetais e cinco concentrações da taxa de crescimento linear do *Fusarium oxysporum* f. sp. ricini, Guanambi-BA, 2018.

Diante do exposto, observa-se que os extratos vegetais são materiais com grande potencial para o desenvolvimento de preparados fitossanitários. Com isso pode-se inferir que apenas o extrato de cravo-da-índia apresentou atividade antifúngica e apresenta potencial para futuro estudos de sua utilização em campo.

Conclusões:

O cravo-da-índia apresenta atividade antifúngica contra For, sendo indicado para outros estudos sobre métodos de controle em campo.

O algodão de seda não apresentou atividade antifúngica contra *F. oxysporum* f. sp. ricini.

Referências bibliográficas

- AHMAD, K.F., SULTANA, N. Studies on bioassay directed antifungal activity of medicinal plants *Calotropis procera*, *Skimmia laureola*, *Peltophorum pterocarpum* and two pure natural compounds ulopterol and 4-methoxy-1-methyl-3-(2' S-hydroxy-3'-ene butyl)-2-quinolone. *Journal of the Chemical Society of Pakistan* 25(4): 328-330, 2003.
- ARAÚJO, A.E.; SUASSUNA, N.D.; COUTINHO, W. M.; Doenças e seus manejo. In: *O Agronegócio da Mamona no Brasil*, 2ª edição revista e ampliada. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2007.
- BETTIOL, W. Controle biológico de doenças do filoplano. In: BETTIOL, W. (Org.). *Controle biológico de doenças de plantas*. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA. 1991. 338p, 1991.
- COSTA, R.V.S.; SOARES, D.J.; MILANI, M.; NÓBREGA, M.B.M. Avaliação de genótipos de mamoeira quanto a resistência a *Fusarium oxysporum f.sp.* V Congresso Brasileiro de Mamona / II Simpósio Internacional de Oleaginosas Energéticas & I Fórum Capixaba de Pinhão Manso. *Anais...* Guarapari (ES), 2012.
- FRANZENER, G.; STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S. Atividade antifúngica e indução de resistência em trigo a *Bipolaris sorokiniana* por *Artemisia camphorata*. *Acta Scientiarum*, v.25, n.2, p.503-507, 2003.
- HASSAN, S.W., BILBIS, F.L., LADAN, M.J., UMAR, R., DANGOGGO, S.M., SAIDU, Y., ABUBAKAR, M.K., FARUK, U.Z. Evaluation of antifungal activity and phytochemical analysis of leaves, roots and stem barks extracts of *Calotropis procera* (Asclepiadaceae). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9(14): 2624-2629, 2006.
- KUTA, F.A. Antifungal effect of *Calotropis procera* stem bark on *Epidermophyton floccosum* and *Trichophyton gypseum*. *African Journal of Biotechnology* 7(13): 2116- 2118, 2008.
- LÁZARO, S.F.; FONSECA, L.D.; FERNANDES, R.C.; TOLENTINO, J.S.; MARTINS, E.R.; DUARTE, E.R. Efeito do extrato aquoso do algodão de seda (*Calotropis procera* Aiton) sobre a eficiência reprodutiva do carrapato bovino. *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu*, v.14, n.2, p.302-305, 2012
- MELO, M.M. et al. Estudo fitoquímico da *Calotropis procera* Ait., sua utilização na alimentação de caprinos: efeitos clínicos e bioquímicos séricos. *Revista Brasileira Saúde Produção Animal*, v.1, n.2, p.15-20, 2001
- MIGUEL, E. G., FERREIRA, L. R., DONEGA, M. A., DIAS-ARIEIRA, C. R. E AVILA, M. R. Atividade de extratos de nim (*Azadirachta indica*) sobre o crescimento de *Colletotrichum* spp.. *Summa Phytopathologica*, 32 (supl.) S.18-S.18. 2006
- MOREIRA, C.G.A. et al. Caracterização parcial de frações obtidas de extratos de *Cymbopogon nardus* com atividade elicitora de fitoalexinas em sorgo e soja e efeito sobre *Colletotrichum lagenarium*. *Summa Phytopathologica*, v.34, n.4, p.332-7, 2008.
- NASCIMENTO, J.M.; SERRA, A.P.; BACCHI, L.M.; GAVASSONI, W.L.; VIEIRA, M.C. Inibição do crescimento micelial de *Cercospora calendulae* Sacc. por extratos de plantas medicinais. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, v.15, n.4, p.751-756, 2013.
- R CORE TEAM (2016). *R: A language and environment for statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.URL <http://www.R-project.org/>.
- RANASINGHE, L.; JAYAWARDENA, B.; ABEYWICKRAMA, K. Fungicidal activity of essential oils of *cinnamomum zeilanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L) Merr et LM. Perry against crown rot anthracnose pathogens isolated from banana. *Letters in Applied Microbiology*, Cardiff, v.35, p.208-211, 2002
- 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 cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. *Ciência Rural*, v.38, n.2, p.301-307, 2008.
- SHARMA, N., TRIVEDI, P.C. Screening of leaf extracts of some plants for their nematicidal and fungicidal properties against *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum*. *Asian Journal of Experimental Sciences* 16(1-2): 21-28, 2002.
- SOUZA, A.C.A.C.; POLTRONIERI, L.S.; COSTA, R.C.da; PEREIRA, D.R.S.; FECURY, M.M; SANTOS, I.P.dos; XAVIER, J.R.M. Ação do extrato do cravo da índia sobre o crescimento micelial de fungos fitopatogênicos. In: III COBRADAN, 11, Belém, *Anais...* Embrapa: Belém,p. 158, 2006
- STANGARLIN, J.R. et al. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. *Biociência* v. 11, p. 16-21, 1999
- VENTUROSO, L. R. *Extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos à soja* (Dissertação mestrado) - Universidade Federal da Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, p.99, 2009.