



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE EXTRATOS AQUOSOS DE CANELA, CRAVO E ALHO SOBRE *Fusarium oxysporum* f. sp. *zingiberi*

⁽¹⁾Tatiane Paulino da Cruz, ⁽¹⁾Rodolfo Ferreira Mendonça, ⁽¹⁾Lilianne Gomes da Silva, ⁽²⁾Celson Rodrigues, ⁽²⁾Fábio Ramos Alves

¹Programa de Pós Graduação de Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), Alegre-ES, Brasil, (agronomapaulino@hotmail.com)

²Professor Doutor do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), Alto Universitário, s/n, CEP. 29500-000, Caixa Postal 16, Alegre-ES, Brasil

Recebido em: 06/10/2012 – Aprovado em: 15/11/2012 – Publicado em: 30/11/2012

RESUMO

A procura por novos métodos de controle para doenças de plantas é intensa devido à crescente resistência dos microorganismos patogênicos frente aos produtos sintéticos. Por esse motivo, as pesquisas utilizando extratos vegetais têm-se intensificado. Desta forma, objetivou-se avaliar o potencial de três extratos aquosos sobre o desenvolvimento in vitro de *Fusarium oxysporum* f. sp. *zingiberi*. Os tratamentos constaram dos extratos brutos aquosos de alho, canela e cravo-da-índia, nas concentrações de 5, 10, 15, 20, 25 e 30%, mais a testemunha (somente BDA). A taxa de inibição do crescimento micelial foi proporcional à concentração dos extratos utilizados. O extrato de cravo na concentração de 10 e 15% promoveu uma inibição acima de 50% do desenvolvimento do fungo, o extrato de alho na concentração de 25% promoveu uma inibição de 100%, enquanto que o extrato de canela apresentou o menor efeito, somente a partir da concentração de 25% que promoveu uma redução acima de 50% do desenvolvimento do *F. oxysporum* f. sp. *zingiberi*.

PALAVRAS- CHAVE: plantas medicinais; manejo ecológico; *Zingiber officinale*.

EVALUATION OF ACTIVITY OF AQUEOUS EXTRACTS OF CINNAMON, CLOVE AND GARLIC ON *Fusarium oxysporum* f. sp. *zingiberi*

ABSTRACT

The search for new methods to control plant diseases is intense due to increasing resistance of pathogenic microorganisms compared to synthetics. For this reason research using plant extracts has intensified. By this way, the objective was to evaluate the potential of three aqueous extracts on the in vitro development of *Fusarium oxysporum* f. sp. *zingiberi*. Treatments consisted of crude aqueous extracts of garlic, cinnamon and clove, in the concentration of 5, 10, 15, 20, 25 and 30% over the control (BDA only). The rate of mycelial growth inhibition was proportional to the

concentration of the extract used, the clove extract at a concentration of 10 and 15% promoted a greater than 50% inhibition of fungal growth, garlic extract at a concentration of 25% inhibition promoted 100%, while the cinnamon extract showed the lowest effect only at concentrations of 25% which was a decrease of 50% over the development of the *F. oxysporum* f. sp. *zingiberi*.

KEYWORDS: plants medicinal; ecological management; *Zingiber officinale*.

INTRODUÇÃO

O gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) é uma planta herbácea e perene, que possui parte aérea anual e rizomas perenes, carnosos, geralmente de cor amarela, mas podendo ser de coloração branca ou azulada (SOUZA & REZENDE, 2001), com valor comercial em função de seu rizoma, muito utilizado na culinária, tanto seco como *in natura*. Além disso, é utilizado na medicina popular (ELPO & NEGRELLE, 2004) e, segundo SILVA & FELIPE (2005), ele é utilizado como indutor de resistência a doenças em plantas.

As principais cidades produtoras no Estado do Espírito Santo são Santa Leopoldina e Santa Maria de Jetibá, e a introdução da cultura do gengibre nesta região ocorreu por meio de rizomas-semente oriundos do Estado de São Paulo, que por sua vez iniciou seu plantio com material proveniente do Havaí (MOREIRA, 2010).

O sistema de propagação vegetativa convencional do gengibre apresenta sérios problemas relacionados à qualidade fitossanitária. Dentre eles tem-se a disseminação de doenças a cada ciclo da cultura em decorrência de patógenos do solo, tendo como consequência a destruição total das plantações devido à disseminação rápida, principalmente de espécies de fungos como *Fusarium oxysporum*, *Armillariella mellea* e *Sclerotium rolfsii*, espécies de nematóides como *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* e ainda de bactérias como *Ralstonia solanacearum* e *Erwinia* sp. (ARIMURA et al., 2002).

As perdas devido às podridões de rizomas de origem fúngica se iniciam no campo e estão entre as principais causas de perdas em vários países produtores de gengibre, gerando grandes prejuízos ao agronegócio do gengibre brasileiro. Além disso, rizomas-semente contaminados utilizados no plantio constituem fonte de inóculo primário (MOREIRA, 2010).

O desenvolvimento do *F. oxysporum* f. sp. *zingiberi*, agente causal do amarelo do gengibre, é favorecido em temperaturas entre 15 e 30°C e alta umidade. Os sintomas típicos da doença são o amarelecimento primeiramente das margens das folhas inferiores e, posteriormente, se espalham por toda a folha. Primeiro secam as folhas velhas e depois as novas, mas estas não caem, e ocorre a podridão central do rizoma, que tem uma descoloração marrom seguida pelo enrugamento da área. A doença afeta a quantidade de raízes e a qualidade dos rizomas, sendo que na fase final apresenta apenas o rizoma com tecido fibroso (RAVINDRAN & BABU, 2005).

A cultura teve problemas com a inutilização de algumas áreas cultivadas com o aparecimento do amarelo do gengibre e seu difícil controle em função da baixa eficiência, alto custo dos fungicidas e ausência de produtos registrados para este patossistema (CONCI, 2009).

Uma das maiores dificuldades no controle da doença reside no fato do fungo se estabelecer no solo. Sua sobrevivência se dá em função das unidades de

propagação denominadas clamidósporos, que, como observado por LARKIN et al., (1993), se mantêm viáveis por até 16 anos.

A necessidade cada vez maior de se obter sustentabilidade ambiental tem gerado a necessidade de testar produtos naturais, visando um controle alternativo de fitopatógenos. Desse modo, objetivou-se avaliar o efeito dos extratos de alho, canela e cravo no controle in vitro de *Fusarium oxysporum* f. sp. *zingiberi*.

METODOLOGIA

OBTENÇÃO DO EXTRATO VEGETAL

Foram utilizadas 5, 10, 15, 20, 25 e 30g de casca de canela (*Cinnamomum zeilanicum* Breyer), cravo (*Syzygium aromaticum* L.) e bulbilho do alho (*Allium sativum* L.) para obtenção dos extratos aquosos, por meio de trituração em liquidificador com 100 ml de água destilada por 10 minutos, obtendo-se a concentração de 5%, 10%, 15%, 20%, 25% e 30% (v/v). O extrato foi filtrado em funil de vidro contendo algodão estéril e recolhido em erlenmeyer devidamente identificado.

OBTENÇÃO DOS ISOLADOS DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *zingiberi*

O inóculo foi obtido a partir de amostras de rizomas de gengibre oriundos de Santa Maria de Jetibá-ES, com sintomas de podridão, recebidas na Clínica Fitopatológica do NUDEMAFI (CCA-UFES), em 2011. Os procedimentos de isolamento constaram da desinfestação superficial de fragmentos de tecidos lesionados com álcool 70% por um minuto, lavagem em solução de hipoclorito de sódio a 2%, por dois minutos, e lavagem por três vezes consecutivas em água destilada esterilizada. Os fragmentos de tecidos foram acondicionados em placas de Petri contendo meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) e incubados por 10 dias a uma temperatura de 25°C sob luz fluorescente.

BIOATIVIDADE DOS EXTRATOS VEGETAIS NO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *zingiberi*

Para verificar o efeito dos extratos vegetais de cravo, canela e alho sobre o crescimento micelial e esporulação do fitopatógeno, foram adicionados ao meio de cultura BDA os extratos nas concentrações de 5%, 10%, 15%, 20%, 25% e 30% (v/v). Após a solidificação do meio, um disco de 1 cm de diâmetro do meio de cultura contendo micélio de *F. oxysporum* f. sp. *zingiberi* com 10 dias de incubação foi transferido para o centro das placas. Em seguida as placas foram seladas com papel aderente, identificadas e incubadas em estufa do tipo BOD sob fotoperíodo de 12h à temperatura de 25°C (SALGADO et al., 2003). No tratamento testemunha não se adicionou nenhum tipo de produto ao meio de cultura. A avaliação do experimento iniciou 24h após sua instalação, realizando-se medições ortogonais do diâmetro das colônias diariamente, sendo que cada medição correspondeu à média de duas medidas diametralmente opostas da colônia fúngica, tendo como referência as placas testemunhas. O crescimento foi avaliado até que a testemunha atingisse todo o diâmetro da placa.

Para o cálculo da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC), foi

aplicada a fórmula proposta por BASTOS (1997):

$$\text{PIC} = \frac{\text{Cresc. testemunha} - \text{Cresc. tratamento}}{\text{Cresc. testemunha}} \times 100$$

BIOATIVIDADE DOS EXTRATOS VEGETAIS NA ESPORULAÇÃO DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *zingiberi*

Após a avaliação do crescimento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *zingiberi* em placas, realizou-se a contagem de esporos no mesmo material obtido anteriormente. Foi preparada uma suspensão de esporos, para cada tratamento, através da adição de 100 mL de água destilada às placas de Petri. Com o auxílio da alça de Drigalsky, realizou-se leve fricção da colônia fúngica, de modo que fossem liberadas as estruturas reprodutivas do fungo do meio de cultura. A solução formada foi filtrada em béquer, com auxílio de funil de vidro e camada de gaze, possibilitando a passagem de suspensão de água contendo esporos e retenção dos demais materiais, tais como hifas. A suspensão foi homogeneizada e quantificado o número de conídios em câmara de Neubauer (hemacitômetro).

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco concentrações de extratos vegetais mais testemunha e cinco repetições. Foi feita a análise de variância para verificação dos efeitos de tratamentos, utilizando-se a análise de regressão para avaliar a porcentagem de inibição do crescimento micelial dos fitopatógenos, índice de crescimento micelial e a redução da esporulação, em relação à concentração, utilizando o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da análise de regressão observou-se uma redução do crescimento micelial e do nível de esporulação do isolado de *Fusarium oxysporum* f. sp. *zingiberi* em função das concentrações dos extratos estudados.

O desenvolvimento micelial completo (em toda a extensão da placa) da testemunha ocorreu após sete dias da instalação do experimento. Somente a testemunha apresentou desenvolvimento micelial no primeiro dia de avaliação. O fungo apresentou sensibilidade aos extratos utilizados a partir da concentração de 5% e a completa inibição do crescimento micelial ocorreu quando o fungo foi exposto aos extratos de alho, cravo e canela na concentração de 25, 15 e 30% (Figuras 1, 3 e 5).

Resultados promissores utilizando plantas medicinais no controle de doenças de plantas têm sido estudados e relatados na literatura. VENTUROSU et al., (2011) avaliando os extratos aquosos brutos de alho, cravo e canela na concentração de 20% observaram que os extratos de cravo e de alho inibiram em mais de 50% o desenvolvimento micelial dos fungos *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Colletotrichum* sp., *Fusarium solani*, *Cercospora kikuchii* e *Phomopsis* sp.

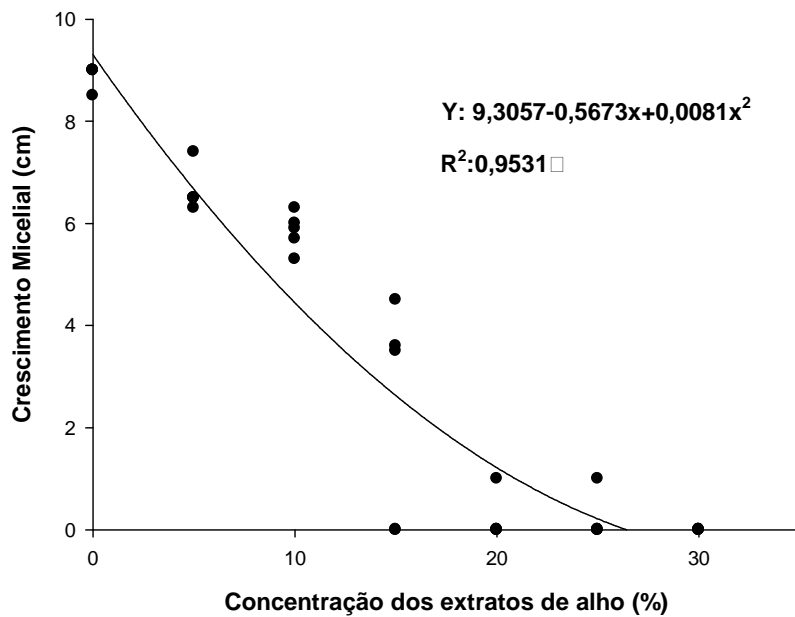


FIGURA 1 – Crescimento micelial máximo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *zingiberi* com a utilização do extrato aquoso de Alho.

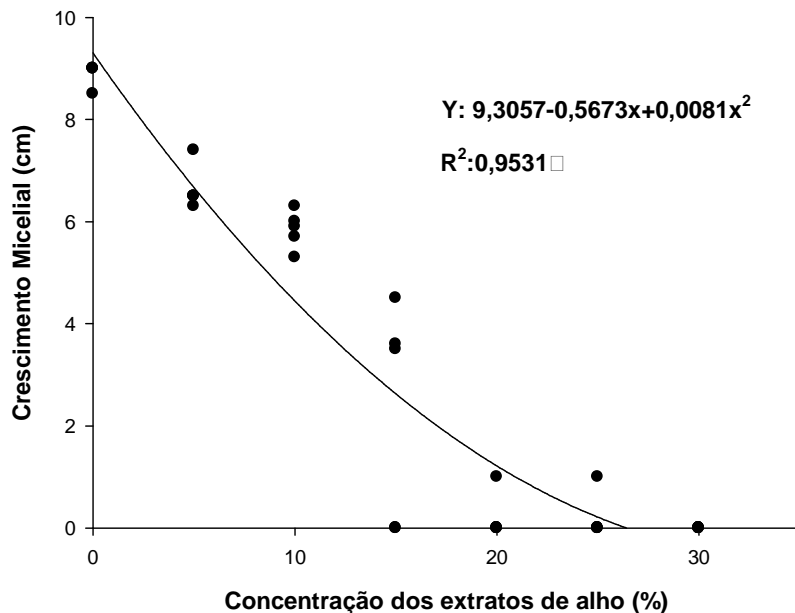


FIGURA 2 – Esporulação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *zingiberi* em relação a concentração do extrato aquoso de Alho.

LEMAR et al., (2005) em seus estudos com *Candida albicans* observaram que a aplicação de extrato de alho causou um estresse oxidativo nas células, o que ocasionou a inibição do crescimento micelial e a desestruturação dos seus componentes celulares. Nossos resultados corroboram com os obtidos no trabalho de SOUZA et al., (2007) que avaliaram a atividade biológica do extrato de alho e concluíram que o crescimento micelial e a germinação de esporos de *F. proliferatum* foram reduzidos com a utilização do extrato aquoso (Figuras 1 e 2).

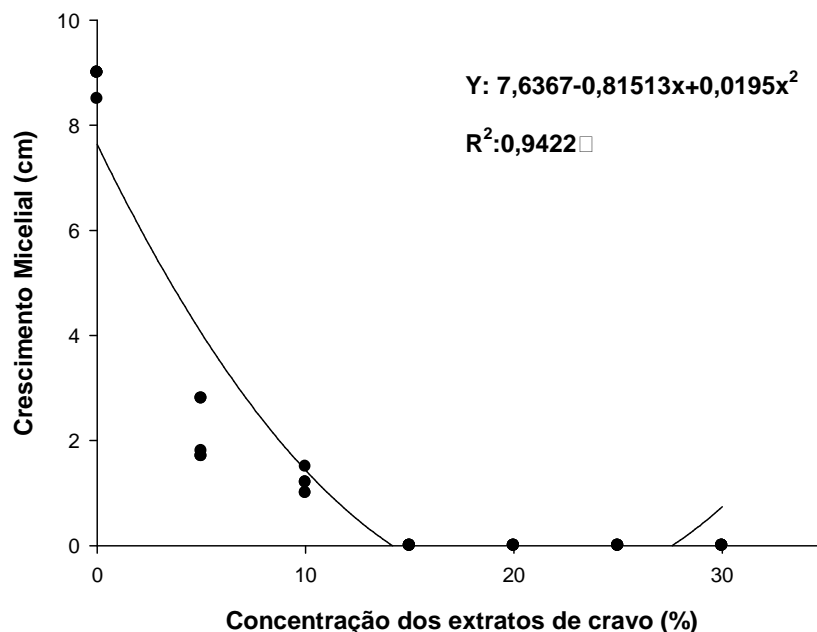


FIGURA 3 – Crescimento micelial máximo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *zingiberi* com a utilização do extrato aquoso de Cravo.

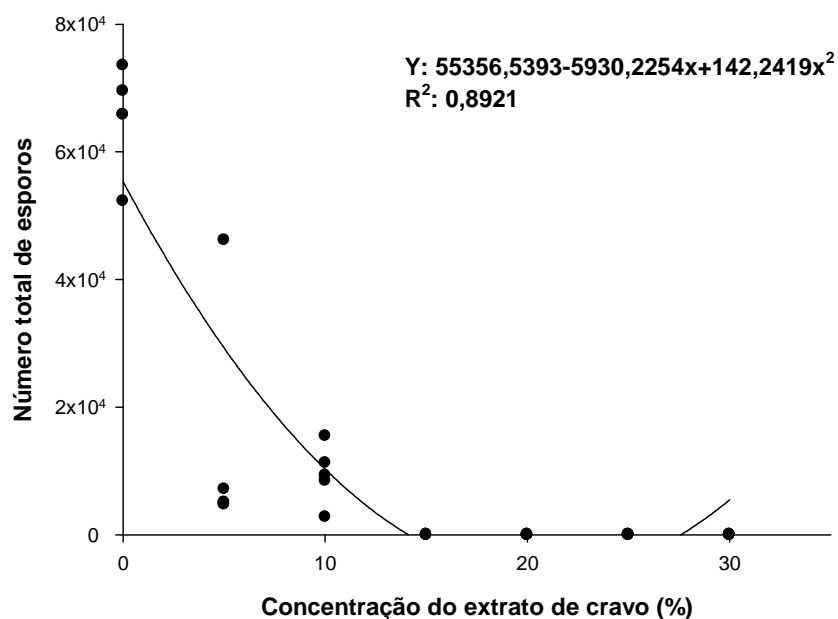


FIGURA 4 – Esporulação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *zingiberi* em relação a concentração do extrato aquoso de Cravo.

ROZWALKA et al., (2008) avaliaram o extrato aquoso de cravo-da-Índia na concentração de 10% e obtiveram resultados de um inibição de 100% do crescimento micelial de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides*. Já neste trabalho a inibição completa do fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *zingiberi* ocorreu quando o mesmo foi exposto a uma concentração de 15% do extrato aquoso de Cravo (Figuras 3 e 4).

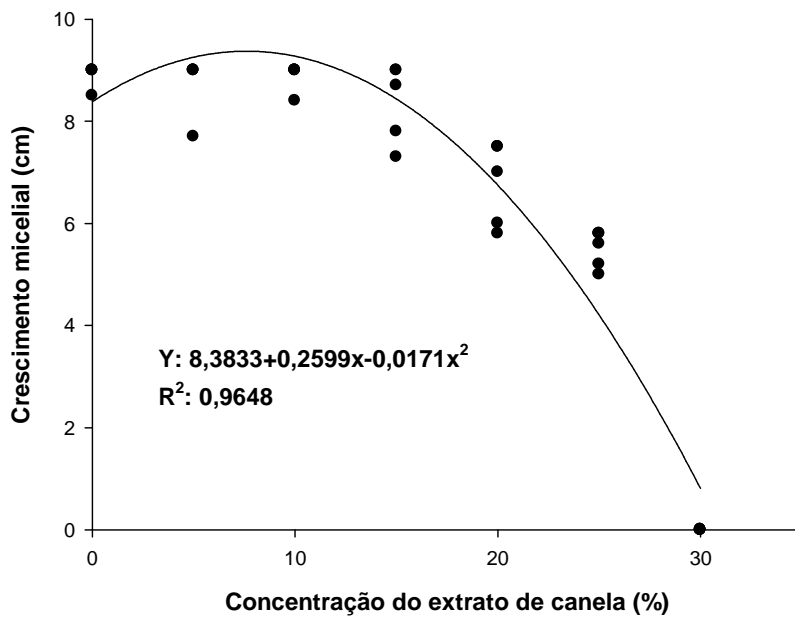


FIGURA 5 – Crescimento micelial máximo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *zingiberi* com a utilização do extrato aquoso de Canela.

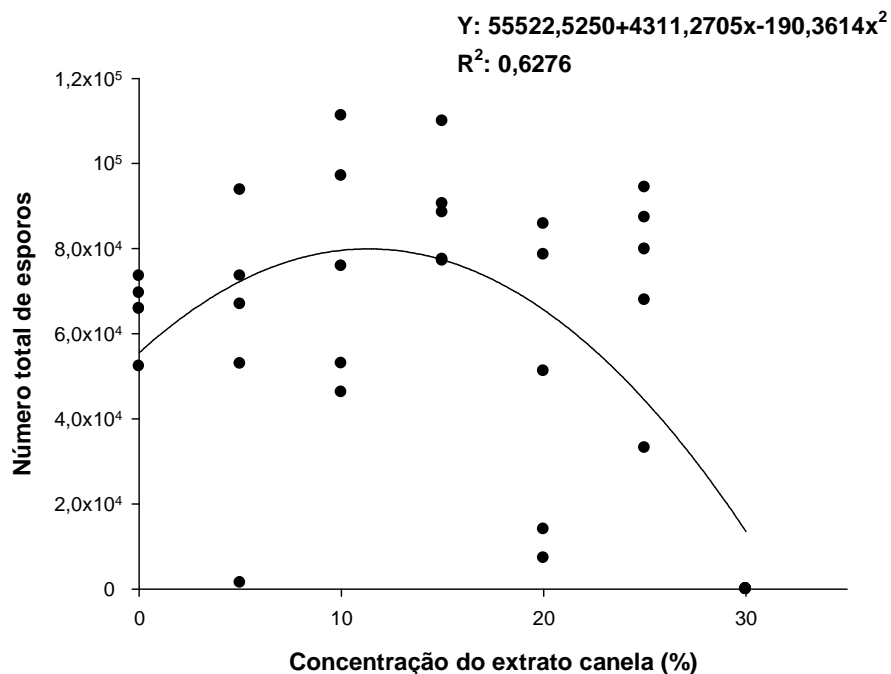


FIGURA 6 – Esporulação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *zingiberi* em relação a concentração do extrato aquoso de Canela.

Estudos realizados por LIMA et al., (2012), demonstraram que, para o fungo *Aspergillus. flavus*, o extrato de canela na concentração de 10% foi suficiente para inibir totalmente a germinação de conídios e reduzir o desenvolvimento micelial do fungo. FARIA et al., (2010) avaliando o efeito do extrato de canela sobre o desenvolvimento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* nas concentrações de 20, 40 e 80%, obtiveram uma redução de 75% na esporulação deste patógeno na maior concentração, porém o seu desenvolvimento micelial não foi afetado. Resultado contrário a esse foi demonstrado nesse trabalho na concentração de 30%, onde o desenvolvimento do patógeno foi completamente inibido e, conforme houve redução no crescimento micelial, a esporulação também foi reduzida (Figuras 5 e 6).

FRENCH (1992) em seus estudos afirma que muitos compostos químicos voláteis presentes nas plantas podem estimular ou inibir o crescimento micelial e a esporulação de fungos em função das concentrações utilizadas.

Os resultados alcançados nesse trabalho indicam boas perspectivas para o uso experimental dos extratos aquosos de alho, canela e cravo no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *zingiberi*. O controle de fitopatógenos em casa de vegetação e em campo deve ser investigado, uma vez que a sua exposição à radiação solar direta e umidade relativa pode alterar sua atividade antifúngica, conforme os resultados encontrados por DINIZ et al. (2006), que realizaram experimentos a campo utilizando extratos combinados de cravo e outras espécies, atomizados sobre a cultura, para controle de *Phytophthora infestans*, agente causador da “requeima do tomateiro”. Estudos posteriores deverão investigar também o comportamento *in vivo* desses extratos a fim de que produtos derivados de alho, canela e cravo possam ser utilizados como uma alternativa aos fungicidas sintéticos.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho comprovam o potencial fungitóxico dos extratos de alho, canela e cravo para o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *zingiberi*. A taxa de inibição do crescimento micelial foi proporcional à concentração dos extratos utilizados. Dentre os extratos testados o que apresentou melhor resultado foi o extrato de cravo que a partir da concentração de 10% reduziu em aproximadamente 50% o desenvolvimento do fungo, sendo que a partir da concentração de 15% houve uma inibição total, seguido pelo extrato de alho que inibiu totalmente o seu desenvolvimento na concentração de 25%. O extrato de canela foi o que mostrou ser o menos eficiente, pois somente a partir da concentração de 25% foi que promoveu uma redução acima de 50% do desenvolvimento do *Fusarium oxysporum* f. sp. *zingiberi* e na concentração de 30% conseguiu inibir por completo o desenvolvimento do fungo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARIMURA, C. T.; FINGER, F. L.; TEIXEIRA, J. B. Interação ANA x BAP no desenvolvimento *in vitro* de gengibre. **Acta Horticulture**, São Pedro, v. 569, p. 289-291, 2002.

BASTOS, C. N. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipelis* e outros fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, n.3, p. 441-443, 1997.

CONCI, L. G. A. **Efeito do hidrolisado de peixe na supressividade do solo para o controle do amarelo (*Fusarium oxysporum* f. sp. *zingiberi*) do gengibre em experiência agroecológica em Tapiraí-SP.** 2009. 71 f. Dissertação (Mestrado em Agroecologia e Desenvolvimento Rural) - Universidade de São Carlos, Araras, 2009.

DINIZ, L. P.; MAFFIA, L. A.; DHINGRA, O. D.; CASALI, V. W. D.; SANTOS, R. H. S.; MIZUBUTI, E. S. G. Avaliação de produtos alternativos para controle da requeima do tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 2, p. 171-179, 2006.

ELPO, E. R. S.; NEGRELLE, R. R. B. *Zingiber officinale*: aspectos botânicos e ecológicos. **Visão Acadêmica**, Goiás, v. 5, n. 1, p. 27-32, 2004.

FARIA, C. M. D. R.; CAVALLIN, I. C.; MARCONDES, M. M.; FARIA, M. V.; RESENDE, J. V. Atividade antifúngica de *Cinnamomum zeylanicum* Blume. sobre *Fusarium oxysporum*, agente causal de podridão de raízes em diversas culturas olerícolas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 2 (Suplemento - CD Rom), 2010.

FERREIRA, D.F. **Sisvar**: versão 4.2. Lavras: UFLA, 2003.

FRENCH, R. C. Volatile chemical germination stimulators of rust and other fungal spores. **Mycologia**, New York, v. 84, n. 3, p. 277-288, 1992.

LARKIN, R. P.; HOPKINS, D. L.; MARTIN, F. N. Ecology of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* in soil suppressive and conducive to *Fusarium* wilt of watermelon. **Phytopatology**, New Brunswick, v. 83, p. 1105-1116, 1993.

LEMAR, K. M.; PASSA, O.; AON, M. A. Allyl alcohol and garlic (*Allium sativum*) extract produces oxidative in *Candida albicans*. **Microbiology**, São Paulo, v. 151, n. 10, p. 3257- 3265, 2005.

LIMA, C. Q.; ALMEIDA, F. A. C.; ARAÚJO, E.; SILVA, J. F.; MORAES, A. M.; MEDEIROS, D.S. Bioatividade de extratos e óleos vegetais no controle in vitro de *Aspergillus flavus* em sementes de amendoim. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 6, n. 1, p. 13-18, 2012.

MOREIRA, S. I. **Fungos e bactérias associados às podridões pós-colheita de rizomas de gengibre no Espírito Santo.** 2010. 54 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.

RAVINDRAN, P. N.; BABU, K. N. **Ginger: the genus zingiber.** Boca Raton: CRC Press, 2005. 552p.

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 [online]**, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 301-307, 2008.

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**, Lavras, v. 27, n. 2, p. 249-254, 2003.

SILVA, A. A. O.; FELIPE, T. A. Esterase envolvida na indução de resistência em plantas de cevada usando como indutores extratos de gengibre e manjeriço. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, (Suplemento 2), p. 1-64, 2005.

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**, Brasília, n. 32, p. 465-471, 2007.

SOUZA, J. L.; REZENDE, P. **Cultivo orgânico de gengibre, taro e inhame**. Viçosa: CPT, 2001. 232p.

VENTUROSOS, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 37, n. 1, p. 18-23, 2011.