

JACQUELINNE ALVES DE MEDEIROS ARAÚJO

**NANOPARTÍCULAS, ÓLEOS ESSENCIAIS E EXTRATOS
VEGETAIS NO CONTROLE *IN VITRO* DE FUNGOS
FITOPATOGÊNICOS**

MOSSORÓ-RN

2014

JACQUELINNE ALVES DE MEDEIROS ARAÚJO

**NANOPARTÍCULAS, ÓLEOS ESSENCIAIS E EXTRATOS
VEGETAIS NO CONTROLE *IN VITRO* DE FUNGOS
FITOPATOGÊNICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Agronomia: Fitotecnia.

Orientador: Prof. Dr. Sc. RUI SALES JÚNIOR
Co-Orientador: Prof. Dr. Sc. FRANCISCO FRANCINÉ M. JÚNIOR

MOSSORÓ-RN

2014

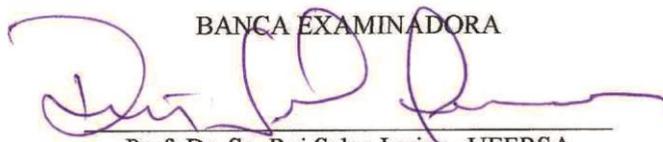
JACQUELINNE ALVES DE MEDEIROS ARAÚJO

**NANOPARTÍCULAS, ÓLEOS ESSENCIAIS E EXTRATOS
VEGETAIS NO CONTROLE *IN VITRO* DE FUNGOS
FITOPATOGÊNICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Agronomia: Fitotecnia.

APROVADA EM: 25/02/2014

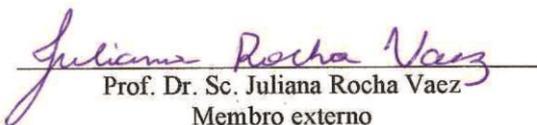
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Sc. Rui Sales Junior - UFERSA
Orientador



Prof. Dr. Sc. Hailson Alves Ferreira Preston
Membro externo



Prof. Dr. Sc. Juliana Rocha Vaz
Membro externo

O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade de seus autores

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central Orlando Teixeira (BCOT)
Setor de Informação e Referência**

A663n	Araújo, Jacquelinne Alves de Medeiros. Nanopartículas, óleos essenciais e extratos vegetais no controle <i>in vitro</i> de fungos fitopatogênicos. / Jacquelinne Alves de Medeiros Araújo. -- Mossoró, 2014 108f.: il. Orientador: Prof. Dr. Rui Sales Júnior. Co-orientador: Prof. Dr. Francisco Franciné M. Júnior. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Pós-Graduação. 1. Extratos vegetais. 2. Fungos fitopatogênicos. 3. Controle. 4. Inibição de crescimento. I. Título.
RN/UFERSA/BCOT	CDD: 665.3

Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB-15/12

Aos meus pais, Jorge Araújo e Silvânia Alves de Medeiros Araújo, que sempre me apoiaram, incentivaram e deram todo o suporte necessário para minha formação moral e acadêmica.

DEDICO

À minha família, em especial às minhas irmãs Karla Janayne Alves de Medeiros Araújo e Jéssica Alves de Medeiros Araújo, e ao meu noivo, Ewerton Marinho da Costa, por todo o apoio, compreensão e carinho que a mim foi dado.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado o dom da vida, por ter me guiado nos caminhos corretos, me dando conforto e paz nas horas fáceis e difíceis, me ajudando a vencer todas as barreiras que encontrei e que por ventura ainda venha a encontrar.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de mestrado, possibilitando o desenvolvimento da pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, pela oportunidade de acesso ao ensino público de qualidade.

Aos professores do Programa de Pós Graduação em Fitotecnia da UFERSA, pelos ensinamentos repassados.

Ao meu orientador, Professor Dr. Sc. Rui Sales Júnior, pelo apoio, incentivo, por sempre estar disponível a me ajudar, colaborando de forma significativa na minha formação acadêmica e acima de tudo pela amizade construída ao longo desses anos.

Ao professor Dr. Sc. Francisco Franciné Maia Júnior, pela co-orientação e apoio no desenvolvimento desse trabalho.

Ao pessoal da Universidade Federal do Ceará, em especial a Judith P. A. Feitosa, Regina C. M. de Paula, Haroldo C. B. de Paula, Pablyana L. R. Cunha e a Natália R. Pires, pela colaboração inestimável para o desenvolvimento desse trabalho, pela disponibilidade em nos ajudar e em nos fornecer as nanopartículas de prata e de goma de cajueiro e o óleo essencial de eucalipto encapsulado com nanopartícula de goma de cajueiro que foram avaliados neste trabalho.

A Ewerton Marinho, Vianey Reinaldo e Ítalo Nunes, pela ajuda inestimável nas análises estatísticas dos resultados obtidos nesse trabalho.

Ao pessoal do Laboratório de Fitopatologia II da UFERSA, Hailton, Ângela, Deyse, Claudinha, Andréia e Ana Paula, pela ajuda no desenvolvimento desse trabalho.

RESUMO

ARAÚJO, Jacqueline Alves de Medeiros. **NANOPARTÍCULAS, ÓLEOS ESSENCIAIS E EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE *IN VITRO* DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS.** 2014. 114f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Mossoró-RN, 2014.

A ocorrência de doenças, especialmente as fúngicas, tem ocasionado perdas severas na produção brasileira de frutas, tanto no campo quanto em pós-colheita. Em virtude do mau uso de agrotóxicos poder acarretar problemas de contaminação ambiental e riscos à saúde humana, tem-se buscado obter novas técnicas de controle alternativo de doenças, como é o caso do emprego de óleos essenciais e extratos vegetais e, mais recentemente, da nanotecnologia. No entanto, ainda são escassas informações na literatura sobre o uso de extratos e óleos vegetais, e principalmente de nanopartículas no controle de determinados fungos fitopatogênicos. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de diferentes concentrações de nanopartículas, óleos essenciais e extratos vegetais no controle *in vitro* de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum musae* e *Rhizoctonia solani*. O trabalho foi dividido em quatro capítulos, sendo os experimentos conduzidos em um delineamento inteiramente casualizado e realizados no Laboratório de Fitopatologia da UFERSA. O primeiro capítulo consiste na introdução geral e referencial teórico sobre o tema abordado neste trabalho. O segundo, dividido em nove experimentos, trata do efeito das nanopartículas de prata (FDAg-12/90; FDAg-12/90-100; e FDAgBH-100) e da nanopartícula de goma de cajueiro no controle de *F. pallidoroseum*, *C. gloeosporioides*, *C. musae* e *R. solani*. O terceiro, dividido em oito experimentos, aborda o efeito do óleo comercial de nim (*Azadirachta indica*) e do óleo essencial de eucalipto (*Eucalyptus staigeriana*) encapsulado com nanopartícula de goma de cajueiro no controle de *F. pallidoroseum*; *C. gloeosporioides*; *C. musae*; e *R. solani*. O quarto, dividido também em oito experimentos, trata da avaliação do extrato aquoso de semente de nim e do extrato comercial da alga *Ascophyllum nodosum* no controle de *F. pallidoroseum*; *C. gloeosporioides*; *C. musae*; e *R. solani*. A avaliação da eficiência no controle dos patógenos foi realizada diariamente, até o crescimento total da testemunha sobre a placa petri, por meio da medição do diâmetro colonial do fungo com posterior cálculo do crescimento radial diário. Conforme os resultados, entre as nanopartículas de prata, a FDAgBH-100 foi a que apresentou efeito inibitório sobre o crescimento micelial dos patógenos, especialmente sobre *F. pallidoroseum* e *C. musae*, com, respectivamente, 15,68% e 14,08% de inibição. A nanopartícula de goma de cajueiro apresentou efeito inibitório, principalmente sobre *C. musae* e *C. gloeosporioides*, com, respectivamente 7,46% e 8,95% de inibição. O óleo de nim apresentou inibição, principalmente sobre o crescimento de *F. pallidoroseum* e *C.*

gloeosporioides, com 17,64% e 15,18%, respectivamente. O óleo essencial de eucalipto apresentou inibição, principalmente sobre o crescimento de *F. pallidoroseum* e *C. gloeosporioides*, com, respectivamente 12,28% e 10,00% de inibição. O extrato aquoso de sementes de nim proporcionou inibição total sobre o crescimento de *C. musae* e *C. gloeosporioides*, enquanto que quando autoclavado, esse percentual foi reduzido. O extrato de *A. nodosum*, apresentou efeito inibitório principalmente sobre o crescimento de *R. solani*, com 42,25% de inibição. Dessa forma, todos constituem em alternativas promissoras no manejo desses fungos fitopatogênicos.

Palavras-chave: Extratos vegetais. Fungos fitopatogênicos. Controle. Inibição de crescimento.

ABSTRACT

ARAÚJO, Jacqueline Alves de Medeiros. **NANOPARTICLES, ESSENTIAL OILS AND EXTRACTS PLANT IN CONTROL IN VITRO PHYTOPATHOGENIC FUNGI**. 2014. 114 f. Dissertation (M.Sc in Agronomy, Plant Science) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Mossoró-RN, 2014.

The occurrence of diseases, especially fungal, has caused severe losses in Brazilian fruit production, both in the field and post-harvest. Because the misuse of pesticides can lead to problems of environmental contamination and human health risks, researchers have tried to obtain new techniques of alternative disease control, such as the use of essential oils and plant extracts and, more recently, nanotechnology. However, there is still little information in the literature on the use of extracts and vegetable oils, and especially of nanoparticles in the control of certain pathogenic fungi. Therefore, the aim of this study was to evaluate the efficacy of different concentrations of nanoparticles, essential oils and plant extracts on the *in vitro* control of *Fusarium pallidroseum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum musae* and *Rhizoctonia solani*. The work was divided into four chapters, and the experiments were conducted in a completely randomized and performed in the Laboratory of Phytopathology UFERSA design. The first chapter consists of general introduction and theoretical background about the topic of this work. The second, divided into nine experiments, this effect of silver nanoparticles (FDAG-12/90; FDAG-12/90-100, and FDAGBH-100) and nanoparticle cashew gum in controlling *F. pallidroseum*, *C. gloeosporioides*, *C. musae* and *R. solani*. The third, divided into eight experiments, discusses the effect of commercial oil of neem (*Azadirachta indica*) and the essential oil of eucalyptus (*Eucalyptus staigeriana*) encapsulated with gum cashew nanoparticle in control of *F. pallidroseum*; *C. gloeosporioides*; *C. musae*; and *R. solani*. The room, also divided into eight experiments, evaluates the aqueous extract of neem seed extract and commercial seaweed *Ascophyllum nodosum* in control of *F. pallidroseum*; *C. gloeosporioides*; *C. musae*; and *R. solani*. The evaluation of the efficiency in the control of pathogens was performed daily until the total growth of the witness on the petri dish, by measuring the diameter of the colonial fungus with subsequent calculation of the daily radial growth. According to the results, between the silver nanoparticles, the FDAGBH-100 showed the inhibitory effect on mycelial growth of pathogens, especially on *F. pallidroseum* and *C. musae*, with, respectively, 15,68% and 14,08% of inhibition. The nanoparticle of cashew gum showed inhibitory effect mainly on *C. musae* and *C. gloeosporioides*, with respectively 7,46% and 8,95% inhibition. The neem oil showed inhibition, mainly on the growth of *F. pallidroseum* and *C. gloeosporioides*, with 17,64% and 15,18%, respectively. The eucalyptus essential oil showed inhibition, mainly on the growth

of *F. pallidroseum* and *C. gloeosporioides*, with respectively 12,28% and 10,00% inhibition. The aqueous extract of neem seed gave complete inhibition on the growth of *C. musae* and *C. gloeosporioides*, whereas when autoclaved, this percentage was reduced. The extract of *A. nodosum*, presented mainly inhibitory effect on the growth of *R. solani* with 42,25% inhibition. Thus, all constitute promising alternatives in the management of these pathogenic fungi.

Keywords: Plant extracts. Plant pathogenic fungi. Control. Inhibition of growth.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

- Tabela 1 – Crescimento radial diário (médias) e percentual de inibição do crescimento micelial de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani* expostos a diferentes alíquotas de nanopartículas de prata FDAgBH-100 durante oito, seis, sete e três dias, respectivamente.....55
- Tabela 2 - Crescimento radial diário (médias) e percentual de inibição do crescimento micelial de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani* expostos a diferentes concentrações de nanopartículas de goma de cajueiro durante sete, seis, seis e três dias, respectivamente.....58

CAPÍTULO III

- Tabela 1 - Crescimento radial diário (médias) e percentual de inibição do crescimento micelial de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani* expostos a diferentes alíquotas do óleo comercial de Nim (Azamax) durante seis, seis, cinco e três dias, respectivamente.....74
- Tabela 2 - Crescimento radial diário (médias) e percentual de inibição do crescimento micelial de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani* expostos a diferentes concentrações do óleo essencial de eucalipto encapsulado com nanopartícula de goma de cajueiro durante sete, seis, cinco e três dias, respectivamente.....78

CAPÍTULO IV

Tabela 1 - Crescimento radial diário (médias) e percentual de inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum musae* e *Colletotrichum gloeosporioides* expostos a diferentes concentrações do extrato aquoso de semente de nim, com e sem a realização da autoclavagem.....98

Tabela 2 - Crescimento radial diário (médias) e percentual de inibição do crescimento micelial de *Fusarium pallidroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani* expostos a diferentes alíquotas do extrato comercial (Acadian) de *Ascophyllum nodosum* durante oito, sete, sete e três dias, respectivamente.....102

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

- Figura 1 - Medição do crescimento micelial dos fungos fitopatogênicos por meio de um paquímetro para realização do cálculo do crescimento radial do patógeno.....52
- Figura 2 – Análise de regressão dos dados do crescimento radial diário de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani* expostos a diferentes alíquotas de nanopartículas de prata FDAgBH-100.....56
- Figura 3 – Análise de regressão dos dados do crescimento radial diário de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani* expostos a diferentes concentrações de nanopartículas de goma de cajueiro.....59

CAPÍTULO III

- Figura 1 – Análise de regressão dos dados do crescimento radial diário de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani* expostos a diferentes alíquotas do óleo comercial de Nim (Azamax).....75
- Figura 2 – Análise de regressão dos dados do crescimento radial diário de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani* expostos a diferentes concentrações do óleo essencial de eucalipto encapsulado com nanopartícula de goma de cajueiro.....79

CAPÍTULO IV

Figura 1 – Análise de regressão dos dados do crescimento radial diário de *Colletotrichum musae* e *Colletotrichum gloeosporioides* expostos a diferentes concentrações do extrato aquoso de semente de nim.....99

Figura 2 – Análise de regressão dos dados do crescimento radial diário de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani* expostos a diferentes alíquotas do extrato comercial (Acadian) de *Ascophyllum nodosum*.....103

SUMÁRIO

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL E REFERENCIAL TEÓRICO	16
1 INTRODUÇÃO GERAL	16
2 REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1 FRUTICULTURA BRASILEIRA.....	18
2.2 PRINCIPAIS DOENÇAS FÚNGICAS NA FRUTICULTURA.....	19
2.2.1 Doenças Pós-colheita	19
2.2.1.1 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz. & Sacc.....	20
2.2.1.2 <i>Colletotrichum musae</i> (Berk. & Curtis) Arx.....	21
2.2.1.3 <i>Fusarium pallidoroseum</i> (Cooke) Sacc.....	21
2.2.2 Doenças ocasionadas por patógenos radiculares	22
2.2.2.1 <i>Rhizoctonia solani</i> Kuhn.....	23
2.3 CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS.....	23
2.3.1 Controle Químico	24
2.3.2 Controles Alternativos de Doenças	24
2.3.2.1 Nanotecnologia.....	25
2.3.2.1.1 Nanopartículas de Prata.....	26
2.3.2.1.2 Nanopartículas de Goma de Cajueiro.....	27
2.3.2.2 Óleos e extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos.....	29
2.3.2.2.1 Derivados de Nim (<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.) no controle de doenças.....	29
2.3.2.2.2 Extratos aquosos de <i>Ascophyllum nodosum</i> L. no controle de doenças.....	31
2.3.2.2.3 Óleo essencial de eucalipto (<i>Eucalyptus staigeriana</i> (F. Muell.)) no controle de doenças.....	32
REFERÊNCIAS	34
CAPÍTULO II – NANOPARTÍCULAS NO CONTROLE <i>IN VITRO</i> DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS	44
RESUMO	44
ABSTRACT	45
1 INTRODUÇÃO	46
2 MATERIAL E MÉTODOS	48
2.1 LOCAL DA REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS E AQUISIÇÕES DOS MATERIAIS.....	48
2.2. DESCRIÇÃO DOS EXPERIMENTOS.....	48
2.2.1 Experimento I: Nanopartículas de prata FDAg-12/90 e FDAg-12/90-100 no controle <i>in vitro</i> de <i>Fusarium pallidoroseum</i>	49

2.2.2 Experimentos que utilizaram as nanopartículas de prata (FDAGBH-100) no controle <i>in vitro</i> de <i>Fusarium pallidoroseum</i>, <i>Colletotrichum musae</i>, <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e <i>Rhizoctonia solani</i>, respectivamente experimentos II, III, IV e V.....	50
2.2.3 Experimentos que utilizaram nanopartículas de goma de cajueiro no controle <i>in vitro</i> de <i>Fusarium pallidoroseum</i>, <i>Colletotrichum musae</i>, <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e <i>Rhizoctonia solani</i>, respectivamente experimentos VI, VII, VIII e IX.....	51
2.3 AVALIAÇÕES DOS TRATAMENTOS E ANÁLISE DOS DADOS.....	52
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
3.1 NANOPARTÍCULAS DE PRATA FDAG-12/90 E FDAG-12/90-100 NO CONTROLE <i>IN VITRO</i> DE <i>Fusarium pallidoroseum</i>	54
3.2 NANOPARTÍCULA DE PRATA FDAGBH-100 NO CONTROLE <i>IN VITRO</i> DE <i>Fusarium pallidoroseum</i> , <i>Colletotrichum musae</i> , <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> E <i>Rhizoctonia solani</i>	54
3.3 NANOPARTÍCULA DE GOMA DE CAJUEIRO NO CONTROLE <i>IN VITRO</i> DE <i>Fusarium pallidoroseum</i> , <i>Colletotrichum musae</i> , <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> E <i>Rhizoctonia solani</i>	58
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	61
REFERÊNCIAS.....	62

CAPÍTULO III – ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE <i>IN VITRO</i> DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS.....	65
RESUMO.....	65
ABSTRACT.....	66
1 INTRODUÇÃO.....	67
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	69
2.1 LOCAL DA REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS E AQUISIÇÕES DOS MATERIAIS.....	69
2.2 DESCRIÇÃO DOS EXPERIMENTOS.....	69
2.2.1 Experimentos que utilizaram o óleo comercial de nim (Azamax), no controle <i>in vitro</i> de <i>Fusarium pallidoroseum</i>, <i>Colletotrichum musae</i>, <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e <i>Rhizoctonia solani</i>, respectivamente experimentos I, II, III e IV.....	70
2.2.2 Experimentos que utilizaram o óleo essencial de eucalipto encapsulado com nanopartícula de goma de cajueiro no controle <i>in vitro</i> de <i>Fusarium pallidoroseum</i>, <i>Colletotrichum musae</i>, <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e <i>Rhizoctonia solani</i>, respectivamente experimentos V, VI, VII e VIII.....	71
2.3 AVALIAÇÕES DOS TRATAMENTOS E ANÁLISE DOS DADOS.....	72
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	74
3.1 EFEITO DO ÓLEO COMERCIAL DE NIM (AZAMAX) NO CONTROLE <i>IN VITRO</i> DE <i>Fusarium pallidoroseum</i> , <i>Colletotrichum musae</i> , <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> E <i>Rhizoctonia solani</i>	74

3.2 ÓLEO ESSENCIAL DE EUCALIPTO ENCAPSULADO COM NANOPARTÍCULA DE GOMA DE CAJUEIRO NO CONTROLE <i>IN VITRO</i> DE <i>Fusarium pallidoroeseum</i> , <i>Colletotrichum musae</i> , <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e <i>Rhizoctonia solani</i>	77
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	82
REFERÊNCIAS	83

CAPÍTULO IV – EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE <i>IN VITRO</i> DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS	87
RESUMO	87
ABSTRACT	88
1 INTRODUÇÃO	89
2 MATERIAL E MÉTODOS	91
2.1 LOCAL DA REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS E AQUISIÇÕES DOS MATERIAIS.....	91
2.2 DESCRIÇÃO DOS EXPERIMENTOS.....	91
2.2.1 Experimentos que utilizaram o extrato aquoso de semente de nim (<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.) no controle <i>in vitro</i> de <i>Colletotrichum musae</i> e <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>, respectivamente experimentos I e II.....	92
2.2.2 Experimentos que utilizaram o extrato aquoso, autoclavado, de semente de nim (<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.) no controle <i>in vitro</i> de <i>Colletotrichum musae</i> e <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>, respectivamente experimentos III e IV.....	93
2.2.3 Experimentos que utilizaram o extrato comercial (Acadian) de <i>Ascophyllum nodosum</i>, no controle <i>in vitro</i> de <i>Fusarium pallidoroeseum</i>, <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>, <i>Colletotrichum musae</i> e <i>Rhizoctonia solani</i>, respectivamente experimentos V, VI, VII e VIII.....	94
2.3 AVALIAÇÕES DOS TRATAMENTOS E ANÁLISE DOS DADOS.....	94
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	97
3.1 EXTRATO AQUOSO DE SEMENTE DE NIM, COM E SEM A REALIZAÇÃO DA AUTOCLAVAGEM, NO CONTROLE <i>IN VITRO</i> DE <i>Colletotrichum musae</i> E <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	97
3.2 EXTRATO COMERCIAL (ACADIAN) DE <i>Ascophyllum nodosum</i> NO CONTROLE <i>IN VITRO</i> DE <i>Fusarium pallidoroeseum</i> , <i>Colletotrichum musae</i> , <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> E <i>Rhizoctonia solani</i>	101
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	105
REFERÊNCIAS	106

APÊNDICES	109
------------------------	------------

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO GERAL E REFERENCIAL TEÓRICO

1 INTRODUÇÃO

O Brasil, apesar de estar, segundo a SEAB (2012), entre os três maiores produtores mundiais de frutas, ainda possui pequeno volume exportado, principalmente devido à ocorrência de perdas na produção, as quais podem estar associadas a problemas de ordem fisiológica, a danos mecânicos ou ataques de micro-organismos tanto na pré quanto na pós-colheita, dentre os quais os fungos ocasionam as perdas mais severas na produção (MARI e GUIZZARDI, 1998; SILVEIRA et al., 2005).

Dentre as principais doenças fúngicas que acometem as culturas, destacam-se as podridões pós-colheita, como as ocasionadas por *Fusarium pallidoroseum* (Cooke) Sacc., *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. & Sacc. e *Colletotrichum musae* (Berk. & Curtis) Arx, além dos danos ocasionados por patógenos radiculares, como é o caso de *Rhizoctonia solani* Kuhn (MICHEREFF et al., 2005; SILVEIRA et al., 2005).

Diante da incidência e severidade de doenças, torna-se necessária a adoção de estratégias de controle a fim de garantir maior sanidade e, conseqüentemente, produção e produtividade da espécie vegetal explorada. De maneira geral, para o controle de doenças fúngicas na agricultura, ainda predomina o uso de fungicidas sintéticos. Entretanto, o uso incorreto destes fungicidas na agricultura pode acarretar contaminação ambiental, ocasionar mortalidade em inimigos naturais e polinizadores, selecionar populações resistentes de pragas, provocar a presença de resíduos em alimentos e ainda ocasionar intoxicação em aplicadores e consumidores (ROEL et al., 2000; CARNEIRO et al., 2007; CARVALHO et al., 2008).

Desta forma, têm sido intensificados os esforços e pesquisas visando à inserção de táticas alternativas de controle no manejo de doenças, como, por exemplo, o uso de fungicidas naturais de origem botânica (ARAÚJO e COSTA, 2013), controle biológico, além do recente emprego da nanotecnologia, que, segundo Furlaneto (2011), representa uma inovação na área da agricultura.

Pesquisas têm demonstrado a eficiência de óleos e extratos vegetais no controle de doenças de plantas, aumentando as expectativas de inserção desses produtos no manejo de doenças em sistemas agrícolas (CARNEIRO et al., 2007).

Desta forma, a eficiência de produtos derivados da *Azadirachta indica* A. Juss., espécie popularmente conhecida como nim, além de óleos essenciais de eucalipto, bem como de outras espécies vegetais, como é o caso de extratos da alga *Ascophyllum nodosum* L., tem sido avaliada no controle de fitopatógenos (MELLO et al., 2005; CARNEIRO et al., 2007; ABREU et al., 2008; DIAS-ARIEIRA et al., 2010; GARCIA et al., 2012).

A nanotecnologia está associada à produção de compostos, a partir de átomos, na escala dos nanômetros e vem sendo empregada em diversas áreas, como na Física, Química, Biologia, Engenharia de Materiais, Eletrônica, Medicina e, mais recentemente, na Agricultura (RIBOLDI, 2009; FURLANETO, 2011).

Na agricultura, pode ser aplicada na produção de nanofertilizantes, nanocidas, além da produção de nanocompósitos para revestimentos com películas plásticas usados em embalagens de alimentos visando a aumentar a vida útil desses produtos (FURLANETO, 2011).

Diversos nanocompósitos podem ser usados na agricultura, como é o caso das nanopartículas de cálcio, de prata e as de dióxido de titânio (CUPERTINO, 2009). No entanto, ainda são escassos estudos sobre o uso destas no controle *in vitro* de fungos, especialmente quando utilizados de maneira isolada, ou seja, sem adição de fungicidas.

2 REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 FRUTICULTURA BRASILEIRA

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas, com uma produção superior a 42 milhões de toneladas, sendo superado apenas por China e Índia. As principais frutas produzidas no país são a laranja (*Citrus spp.*), a banana (*Musa spp.*) e o abacaxi (*Ananas spp.*), que juntas compreendem a 67% da produção nacional de frutas. O estado de São Paulo é o maior produtor nacional de laranja e banana, sendo responsável por 77,2% e 18,5% da produção, respectivamente, ao passo que o abacaxi tem como principais produtores os estados de Minas Gerais, Paraíba e Pará, que juntos respondem por 48,4% da produção nacional (SEAB, 2012).

No entanto, apesar de o cenário produtivo brasileiro ser positivo, o volume de exportação ainda é pequeno, inferior a 2% do montante da produção de frutas, sendo esse baixo volume associado à ocorrência de perdas na produção, com valores que podem atingir índices de 30 a 40% da quantidade produzida (SILVEIRA et al., 2005; SEAB, 2012).

Essas perdas podem ser ocasionadas por diferentes fatores, como: danos fisiológicos; devido à respiração, ao amadurecimento e à senescência natural das plantas e frutos, danos mecânicos, como os ocasionados no campo, no manuseio e uso de embalagens, transportes e armazenamento inadequados, e ainda perdas provocadas pelo ataque de micro-organismos, tanto na pré quanto na pós-colheita, dentre os quais os fungos ocasionam as perdas mais severas na produção (MARI e GUIZZARDI, 1998; SILVEIRA et al., 2005).

2.2 PRINCIPAIS DOENÇAS FÚNGICAS NA FRUTICULTURA

O ataque de micro-organismos tem ocasionado severas perdas na produção brasileira de frutas, especialmente as ocasionadas por fungos, dos quais se destacam as podridões pós-colheita e os danos ocasionados por patógenos radiculares (MICHEREFF et al., 2005; SILVEIRA et al., 2005; FISCHER et al., 2007). Com relação às podridões fúngicas pós-colheita mais frequentes, há aquelas ocasionadas por *Colletotrichum* sp., *Alternaria* spp. e *Fusarium* spp., sendo *Fusarium oxysporum* Schlecht., *Fusarium roseum* (Link) Snyder & Hansen e *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. (SILVEIRA et al., 2005) as espécies mais comuns. No caso dos patógenos radiculares, os de grande destaque são os fungos, como a *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid., *Phytophthora* spp. e *Rhizoctonia* spp., deste último a principal espécie é *Rhizoctonia solani* (MICHEREFF et al., 2005; BUENO JÚNIOR, 2006).

2.2.1 Doenças Pós-colheita

As perdas pós-colheita podem ser definidas como aquelas que ocorrem após a colheita dos frutos em decorrência de danos causados pela falta de comercialização ou do consumo do produto em tempo hábil, como é o caso de danos ocorridos durante o transporte, o armazenamento e a comercialização dos produtos, especialmente em locais distantes do sítio de produção desses frutos (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

As doenças pós-colheita podem ocorrer ainda no campo; neste caso, elas permanecem em estágio latente, manifestando-se apenas após a colheita sob condições ambientais favoráveis (GOMES, 1996; DANTAS et al., 2003). A penetração do patógeno no hospedeiro pode ocorrer por meio da epiderme intacta, de ferimentos ocasionados na colheita, no transporte ou no armazenamento dos frutos e ainda por meio de aberturas naturais, como lenticelas e estômatos (ZAMBOLIM et al., 2002; DANTAS et al., 2003).

Podridões pós-colheita podem apresentar tanto causas parasitárias como fisiológicas. As causas parasitárias consistem naquelas que sempre têm como agente causal fungos, leveduras e bactérias. As causas fisiológicas não apresentam um parasita primário, sendo as doenças ocasionadas por fatores internos do fruto ou devido a uma conservação inadequada, em que a ação de parasitas secundários – fungos, bactérias ou insetos – pode contribuir com essas alterações abióticas (TUSET, 1996).

No caso das ocasionadas por fungos, estas são as que ocorrem com maior frequência, em virtude da grande diversidade de espécies do patógeno envolvidas, bem como da eficiência dos diversos mecanismos de penetração que esses patógenos possuem, sendo responsáveis por 80 a 90% das perdas ocasionadas por fitopatógenos (GULLINO, 1994; DANTAS et al., 2003; TERAO et al., 2008).

2.2.1.1 *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. & Sacc.

O patógeno *Colletotrichum gloeosporioides* é responsável por uma importante doença pós-colheita: a antracnose – que ocorre em diversos frutos tropicais, como, por exemplo, mamão (*Carica papaya* L.), manga (*Mangifera indica* L.) e goiaba (*Psidium guajava* L.), dentre outros – cujos sintomas se manifestam na fase de amadurecimento do fruto, durante seu transporte e armazenamento (BUFFON et al., 2009; MACHADO et al., 2013).

Os sintomas compreendem lesões circulares, deprimidas, medindo até 5 cm de diâmetro, em torno das quais forma-se um tecido aquoso, e na região central das lesões apresenta-se uma massa de esporos de coloração laranja ou rosada (REZENDE e FANCELLI, 1997; MACHADO et al., 2013).

Segundo Rezende e Fancelli (1997), a severidade da doença é afetada pelas condições ambientais, como alta temperatura (sendo 28 °C a temperatura ótima para seu desenvolvimento) e alta umidade, e a principal forma de dispersão do referido patógeno é a água e o vento. Além disso, em caso de ausência de medidas

de controle, nos meses mais quentes do ano, a incidência dessa doença pode atingir de 70 a 100% dos frutos (CARNELOSSI et al., 2009).

2.2.1.2 *Colletotrichum musae* (Berk. & Curtis) Arx

Segundo Cordeiro e Kimati (1997), *Colletotrichum musae* é um fungo que apresenta grande diversidade de formas e tamanhos de esporos, características culturais, bem como de patogenicidade. Além disso, é responsável pela antracnose em banana (*Musa* spp.), doença importante presente tanto na pré-colheita (a qual ocorre em frutos verdes em que a infecção permanece quiescente até a maturação dos frutos, em virtude dos taninos presentes apenas nas cascas de frutos verdes) quanto na pós-colheita dos frutos (em que a infecção se manifesta durante o período de transporte e armazenamento dos frutos).

Os sintomas caracterizam-se pela formação de lesões escuras e deprimidas sobre as quais, em condições de alta umidade, surgem as frutificações rosadas do patógeno, sendo que normalmente a polpa não é afetada, exceto quando exposta a condições de alta temperatura ou quando o fruto está em estágio avançado de maturação (CORDEIRO e KIMATI, 1997).

2.2.1.3 *Fusarium pallidoroseum* (Cooke) Sacc.

O fungo *Fusarium pallidoroseum* é comumente saprófita, podendo ocasionar principalmente podridões em raízes e frutos na pós-colheita, especialmente devido a ferimentos ocasionados no manuseio, armazenamento e transporte inadequados (TERAO et al., 2008).

A disseminação ocorre por meio do vento, da água ou do contato direto do fruto com solo contaminado por esse patógeno (SNOWDON, 1990; DIAS e TERAO, 2006). Sua penetração ocorre principalmente por meio de ferimentos, mas

pode se dar por meio de aberturas naturais, como as lenticelas (BRUTON et al., 1998).

As podridões em frutos consistem em lesões principalmente na zona de abscisão peduncular, em que inicialmente surgem pequenas lesões acompanhadas de intenso crescimento micelial de coloração branca, e quando os frutos são submetidos a condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento do patógeno, como temperatura em torno de 30 °C, pode ocorrer rápido crescimento das lesões, acarretando em fissuras, podendo implicar na completa destruição do fruto, cujas infecções podem inviabilizar a comercialização, especialmente para o mercado externo (DIAS e TERAO, 2006; FREIRE, 2006).

2.2.2 Doenças ocasionadas por patógenos radiculares

Patógenos radiculares podem ser definidos como organismos que passam a maior parte do seu ciclo de vida no solo, infectando órgãos subterrâneos ou caules de plantas, com capacidade de sobreviver na ausência de seus hospedeiros (HILLOCKS e WALLER, 1997; MICHEREFF et al., 2005).

Dentre eles, os que merecem destaque são os fungos, as bactérias e os nematóides, sendo os fungos o maior grupo de patógenos radiculares, ocorrendo em todos os sistemas agrícolas e causando danos nas principais espécies cultivadas, em virtude de apresentarem alta capacidade de competição saprofítica e possuírem estruturas de resistência (como oósporos, clamidósporos, esclerócios) que os tornam capazes de sobreviver em condições ambientais adversas e permanecer viáveis mesmo na ausência do hospedeiro, como é o caso da *Macrophomina phaseolina*, *Phytophthora* spp. e *Rhizoctonia* spp. (MICHEREFF et al., 2005; BUENO JÚNIOR, 2006).

2.2.2.1 *Rhizoctonia solani* Kuhn

Rhizoctonia solani é um fungo cosmopolita, que apresenta ampla gama de hospedeiros (BOTELHO et al., 2001). Sobrevive saprofiticamente no solo e ocasiona podridões em raízes, cancos em colo e caule, além de tombamento de plântulas e plantas (CASTRO, 2007). Sobre a superfície dos tubérculos, formam-se escleródios, que consistem em estruturas de resistência do patógeno, sendo importantes fontes de inoculo para as plantas (GIOVANNINI et al., 2005). Sua disseminação ocorre por meio do vento, da chuva, do homem, animais ou implementos agrícolas contaminados (ONESIROSAN, 1975).

Com relação à sintomatologia, tem-se como exemplo a queima das folhas, na qual se observa coloração cinza nas áreas queimadas, ataque em reboleira, desfolha precoce e até a morte da planta, além do tombamento das mudas, ocorrendo tanto na pré quanto na pós-emergência (FERREIRA, 1989; FERREIRA 1991; REZENDE e FERREIRA, 1992; CASTRO, 2007).

2.3 CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS

O controle de doenças fúngicas na agricultura ainda é baseado no controle químico por meio do uso de fungicidas. Entretanto, é crescente a preocupação mundial em relação ao uso de agrotóxicos na agricultura, principalmente devido aos problemas que seu mau uso pode acarretar, como contaminação ambiental, mortalidade de inimigos naturais e polinizadores, resíduos em alimentos e intoxicação de trabalhadores e consumidores.

Tem-se buscado, portanto, inserir táticas alternativas de controle no manejo de doenças, como, por exemplo, o uso de fungicidas naturais de origem botânica, uso do controle biológico, além do recente emprego da nanotecnologia (ROEL et al., 2000; CARNEIRO et al., 2007; CARVALHO et al., 2008; FURLANETO, 2011).

2.3.1 Controle Químico

O controle químico por meio do emprego de agrotóxicos muitas vezes é tido como a única forma eficiente e viável no controle de doenças em plantas, garantindo alta produtividade e qualidade na produção. Os fungicidas são o grupo mais importante no controle de doenças, sendo classificados quanto ao modo de aplicação em erradicantes ou de contato; protetores ou residuais e fungicidas sistêmicos (MICHEREFF, 2001). Entretanto, seu uso inadequado pode ocasionar problemas de contaminação ambiental e riscos à saúde humana (ROEL et al., 2000; CARNEIRO et al., 2007; CARVALHO et al., 2008).

2.3.2 Controles Alternativos de Doenças

Em virtude dos inúmeros problemas ambientais e à saúde humana que o mau uso dos agrotóxicos pode acarretar, tem-se buscado o desenvolvimento de novas estratégias de controle que possam ser inseridas no manejo de doenças de forma eficiente. Uma nova estratégia que vem sendo empregada recentemente no controle de doenças é a nanotecnologia, a qual, segundo Furlaneto (2011), compreende uma inovação na área tecnológica da agricultura.

Além disso, outras estratégias também vêm sendo utilizadas no controle de doenças. Dentre elas, tem-se o emprego de óleos essenciais e extratos vegetais provenientes do nim, que vem sendo amplamente estudada por possuir princípios ativos com ação inseticida e fungicida, além de óleos essenciais de eucalipto (*Eucalyptus staigeriana* F. Muell.), bem como de outras espécies vegetais, como é o caso de extratos da alga *Ascophyllum nodosum*. Outros derivados de vegetais também vêm sendo usados no controle de agentes fitopatogênicos, como é o caso da goma arábica no controle de fungos e da goma de cajueiro no controle de bactérias (CARNEIRO, 2007; MOSSINI e KEMMELMEIER, 2005; DIAS-ARIEIRA et al., 2010; MAQBOOL et al, 2010; CAMPOS et al., 2012; GARCIA et al., 2012).

2.3.2.1 Nanotecnologia

A Nanotecnologia baseia-se na criação de partículas a partir de moléculas de átomos em uma escala nanométrica (10^{-9} m) por meio da utilização do microscópico eletrônico de varredura (RIBOLDI, 2009; FURLANETO, 2011).

O termo Nanotecnologia foi criado em 1974 por Norio Taniguchi, e seu uso se intensificou a partir dos anos 80 com a invenção do microscópio de tunelamento e do microscópico de força atômica, o que garantiu a análise de estruturas nanométricas, além do desenvolvimento de nanotubos de carbono (RIBOLDI, 2009).

As nanopartículas, embora do mesmo elemento químico que as moléculas maiores, comportam-se distintamente destas quanto à coloração, condutividade elétrica e propriedades termodinâmicas, já que o tamanho das partículas modifica a natureza das interações das forças entre as moléculas do material, fazendo variar, portanto, seu impacto sobre o meio ambiente, saúde humana e a sociedade como um todo (RIBOLDI, 2009).

Essas partículas ocorrem de três formas: esféricas, baculiformes e lamelares. As partículas esféricas eram utilizadas inicialmente para reduzir o custo de resinas mais caras, dentre as quais se tem a sílica (SiO_2), carbonato de cálcio (CaCO_3) e dióxido de titânio (TiO_2), que vêm sendo utilizados para formação de nanopartículas. Como exemplos de baculiformes, há os nanotubos de carbono, que são os mais estudados, além dos nanotubos de dióxido de titânio e nanofibras de carbono. Já nas lamelares, tem-se a argila mineral montmorilonita (CUPERTINO, 2009).

Pesquisas envolvendo a nanotecnologia vêm sendo desenvolvidas em diversas áreas, como na Física, Química, Biologia, Eletrônica, Medicina e mais recentemente na Agricultura (RIBOLDI, 2009; FURLANETO, 2011).

As nanopartículas normalmente são sintetizadas por meio de métodos físicos, químicos e biológicos, e em virtude dos métodos físicos e químicos requererem alto custo de energia, além de poder envolver substâncias tóxicas. Tem sido intensificado o uso do método biológico, que pode ser realizado por meio de:

emprego de bactérias; utilização de fungos, processo denominado de micossíntese, como o emprego de diversas espécies de *Fusarium* spp. para a biossíntese de nanopartículas metálicas; emprego de plantas, processo denominado fitossíntese, como no caso da utilização do mamão (*Carica papaya* L.) para a biossíntese de nanopartículas; além do emprego de cianobactérias e actinomicetos. Ressalte-se que dentro da biossíntese verde são mais empregadas as proteínas oriundas de fungos e plantas, que atuarão como agentes de proteção e estabilização das nanopartículas sintetizadas (RAI, 2003).

Na agricultura, representa uma importante inovação tecnológica, de vez que proporcionará melhorias na produtividade e qualidade dos produtos, podendo ser utilizada na produção de nanofertilizantes, nanocidas ou pesticidas encapsulados em nanopartículas para liberação controlada, além da produção de nanocompósitos e nanobiocompósitos para revestimentos com películas plásticas usados em embalagens de alimentos visando ao aumento de sua vida útil (FURLANETO, 2011). No entanto, ainda são bastante escassos estudos que se referem ao uso da nanotecnologia no controle *in vitro* de agentes fitopatogênicos.

2.3.2.1.1 Nanopartículas de Prata

As nanopartículas de prata apresentam amplo espectro de ação contra bactérias, especialmente as *Staphylococcus aureus* (Rosenbach), *Escherichia coli* (Migula) e *Pseudomonas aeruginosa* (Schroter.); fungos, como *Candida albicans* (Robin) Berkhout; além de ser altamente eficazes como agentes antivirais (RAI, 2003).

Carreira et al. (2009), avaliando a eficiência antimicrobiana das nanopartículas de prata sobre esporos, leveduras e bactérias em diferentes tempos experimentais (5, 10, 15 e 30 minutos), observaram redução significativa no tempo experimental de trinta minutos para bactérias avaliadas na forma vegetativa (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* Clarke, *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis* (Andrewes and Horder) Schleifer e Kilpper-Balz, com

respectivamente 99,9; 99,7; 77,6 e 93,7%) e uma eliminação total de *Candida albicans* já a partir do tempo experimental de cinco minutos, observando ainda a influência do tempo de contato dos micro-organismos com as nanopartículas de prata com a efetividade da prata.

Kim et al. (2009), avaliando o efeito antifúngico de nanopartículas de prata no controle *in vitro* de *Raffaelea* sp., observaram que o crescimento do fungo foi significativamente inibido em função da dose aplicada (0; 5; 10 e 25 ppm), de modo que quanto maior a dose menor foi o crescimento de hifas do fungo, observando-se ainda efeitos prejudiciais das nanopartículas de prata sobre a germinação dos conídios.

Kim et al. (2012) avaliaram o efeito antifúngico de três diferentes nanopartículas de prata (WA-CV-WA13B; WA-AT-WB13R; WA-PR-WB13R) em diferentes concentrações (10; 25; 50 e 100 ppm) no controle *in vitro* de dezoito espécies de fungos fitopatogênicos e observaram que a inibição total do crescimento da maioria dos patógenos foi observada na concentração de 100 ppm das nanopartículas, sendo a nanopartícula de prata WA-CV-WA13B a que apresentou maior potencial de inibição, indicando, além disso, que as taxas de inibição dependem da concentração das nanopartículas aplicada.

2.3.2.1.2 Nanopartículas de Goma de Cajueiro

A goma de cajueiro é um heteropolissacarídeo ácido, solúvel em água e precipitado com solventes orgânicos polares, como o etanol (CAMPOS et al., 2012). É exudado de cajueiros (*Anacardium occidentale* L.) por meio de ferimentos realizados especialmente nos troncos dessas árvores (TORQUATO et al., 2004).

A composição de polissacarídeos da goma de cajueiro, segundo Campos et al. (2012), varia conforme a fonte, a idade da planta, as condições climáticas e o tempo de exsudação. Entretanto, segundo Ofori-kwakye et al. (2010), a goma de

cajueiro é constituída por 61% de galactose, 14% de arabinose, 7% ramnose, 8% de glucose e 5% de ácido glucurônico.

A goma de cajueiro é estruturalmente semelhante à goma arábica, ambas possuindo cadeias de polissacarídeos compostas por ácido glicurônico e galacturônico, que podem estar associados à sua atividade antimicrobiana (MARQUES et al., 1992; CAMPOS et al., 2012; SILVA et al., 2013).

Campos et al. (2012), avaliando a atividade antimicrobiana de goma de cajueiro bruta e purificada sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Candida albicans*, *Listeria innocua* (Hofer) e *Lactobacillus acidophilus* (Enpac), observaram que ambas inibiram o crescimento da maioria dos micro-organismos estudados, sendo que a goma de cajueiro bruta inibiu apenas as bactérias Gram-positivas ao passo que a goma de cajueiro purificada inibiu todos os micro-organismos estudados, exceto *C. albicans* e *L. acidophilus*.

Segundo Silva et al. (2013), considerando a escassez de trabalhos sobre o tema, o emprego da goma de cajueiro na nanotecnologia representará importantes avanços tecnológicos. Os trabalhos existentes sobre nanopartículas de goma de cajueiro estão relacionados à sua síntese e não diretamente à sua aplicação na área da agricultura, como o controle de agentes fitopatogênicos.

Santos et al. (2009), avaliando a síntese de nanopartículas de goma de cajueiro, observaram que a interação goma de cajueiro oxidada e goma de cajueiro com a quitosana é bastante promissora para a formação das nanopartículas, sendo que a goma de cajueiro oxidada produziu nanopartículas superiores às formadas pela adição da goma de cajueiro à quitosana. Apesar de possuírem maior tamanho, as nanopartículas sintetizadas com goma de cajueiro oxidada mostraram-se mais homogêneas e com baixo índice de polidispersão.

Moura (2009), avaliando a síntese de nanopartículas à base de goma do cajueiro para aplicação em sistemas de liberação de fármacos, observou que na síntese via enxertia de poliacrilamida em goma de cajueiro a liberação dos fármacos foi afetada pelo pH do meio, indicando que essas nanopartículas apresentaram-se promissoras quanto à liberação de fármacos sensíveis ao pH, ao

passo que as de goma modificada hidrofobicamente apresentaram potencial de utilização como matrizes na liberação de fármacos hidrofóbicos.

2.3.2.2 Óleos e extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos

De acordo com Copping e Duke (2009), produtos naturais são utilizados há milhares de anos pelo homem para benefício da humanidade.

Segundo Carneiro et. al. (2007), algumas pesquisas têm demonstrado a eficiência de óleos e extratos vegetais no controle de doenças de plantas, aumentando as expectativas de inserção desses produtos no manejo de doenças em sistemas agrícolas.

Desta forma, a eficiência de produtos vegetais, como derivados de nim e de eucalipto, tem sido avaliada no controle de fitopatógenos (MELLO et al., 2005; PIGNONI e CARNEIRO, 2005; CARNEIRO et al., 2007; LUDWIG et al., 2007; DIAS-ARIEIRA et al., 2010; PIATI et al., 2011; GARCIA et al., 2012), sendo obtidos resultados satisfatórios.

Além disso, derivados de algas, como é o caso de extratos de *Ascophyllum nodosum*, vêm sendo bastante empregados na agricultura, atuando tanto como bioestimulantes (por serem importantes fontes de nutrientes) quanto no controle de agentes fitopatogênicos (MARTINS, 2006; ABREU et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2011; KOYAMA et al., 2012).

2.3.2.2.1 Derivados de Nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) no controle de doenças

O nim é uma planta da família Meliaceae, originária da Índia, e que foi introduzida no Brasil no ano de mil novecentos e oitenta e seis (MARTINEZ, 2002). Nas últimas décadas, essa espécie botânica vem sendo amplamente estudada por possuir princípios ativos com ação inseticida e fungicida, sendo a azadiractina, azadiradione, nimbim e salanim os principais responsáveis por esse efeito

(SCHMUTTERER, 1990; SURESH et al., 2004; MELLO et al., 2005; MOSSINI e KEMMELMEIER, 2005; PIGNONI e CARNEIRO, 2005; CARNEIRO et al., 2007; NEVES e CARPANEZZI, 2008; SILVA et al., 2009; MATIAS et al., 2011; GARCIA et al., 2012).

A eficiência de derivados de nim no controle de agentes fitopatogênicos já foi relatada por diversos pesquisadores. Rovesti et al. (1992), avaliando a eficiência de extratos de nim no controle de fungos, verificaram que o extrato aquoso de sementes de nim aplicado na concentração de 25g/L controlou o oídio (*Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht. et Fr.) Poll.) do pepino (*Cucumis sativus* L.) e a concentração de 20g/L desse extrato controlou o oídio (*S. fuliginea*) da abobrinha (*Cucurbita pepo* L.), *Blumeria graminis* (Speer) f. sp. *tritici* (Em. Marchal.) em trigo e *Blumeria graminis* (Speer) f. sp. *hordei* (Em. Marchal.) em cevada.

Sindhan et al. (1999) testaram a eficiência de extrato de folhas de nim no controle do oídio (*Erysiphe pisi* D. C.) em ervilha (*Pisum sativum* L.) em casa de vegetação. O extrato foi produzido a partir de folhas frescas moídas em água destilada na proporção 1:1 (p/v). O extrato foi filtrado, diluído nas concentrações de 10%, 20% e 30% e pulverizado no início do surgimento dos sintomas, mostrando-se eficiente no controle da doença. Observaram o controle de *Erysiphe pisi* em ervilha (*Pisum sativum*) em casa de vegetação com a aplicação de NeemAzal, produto à base de nim contendo 5% de azadiractina, resultado semelhante ao observado por Prithviraj et al. (1998), sendo este realizado em campo.

Prithviraj et al. (1998) avaliaram ainda o controle do míldio (*Plasmopara viticola* (Berkeley e Curtis) Berlese e De Toni) da videira (*Vitis* spp.) por meio de extrato de sementes de nim em água destilada, observando alta eficiência quando se utilizou a proporção de 25 g de sementes/L do extrato sobre efeitos protetor e curativo quando comparado à testemunha. O mesmo extrato controlou o oídio do pepino, sendo mais eficiente quando aplicado curativamente em estudos realizados por Steinhauer (1999).

Carneiro et al. (2007) avaliaram a eficiência de óleo de nim no controle de oídio (*Erysiphe polygoni* D. C.) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) nas

concentrações de 0,5; 1,0 e 1,5% e observaram que as três concentrações do óleo emulsionável de nim reduziram o número médio de manchas de oídio/folha quando comparados à testemunha. Os autores avaliaram ainda a eficiência de extratos de sementes de nim nas proporções de 35, 25 e 15 g/L no controle de oídio do feijoeiro aplicados 48 horas antes e 24 horas após a inoculação e observaram que extrato de sementes reduziu os sintomas de oídio em aproximadamente 82% na aplicação preventiva e em 98% na pulverização realizada após a inoculação.

Dias-arieira et al. (2010), avaliando a atividade do óleo de nim em diferentes concentrações (0; 0,25; 0,5; 1; 1,5%) no controle *in vitro* de *Colletotrichum acutatum* (Simmonds) em morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch) verificaram que as concentrações de 1 e 1,5% proporcionaram mais expressivas reduções no crescimento micelial do patógeno (84,4%), não diferindo significativamente entre si.

Silva et al. (2011), avaliando o efeito do óleo de nim em diferentes concentrações (0; 10; 50; 100; 200 µg/mL) sobre o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* em seringueira (*Hevea brasiliensis* (HBK) M. Arg.), observaram que as concentrações de 100 e 200 µg/mL apresentaram os melhores resultados, com inibição de 58 e 60%, respectivamente, após sete dias de incubação.

2.3.2.2.2 Extratos aquosos de *Ascophyllum nodosum* L. no controle de doenças

Ascophyllum nodosum é uma alga marinha pertencente à divisão Phaeophyta, que já vem sendo bastante explorada por ser considerada importante fonte de nutrientes, carboidratos e aminoácidos, atuando como bioestimulantes na agricultura, melhorando o desenvolvimento vegetativo e a qualidade dos frutos (MARTINS, 2006).

Esta alga já vem sendo explorada comercialmente em uma ampla gama de produtos, entre eles o Acadian[®], fertilizante aplicado tanto via foliar quanto fertirrigação, usado para estimular o crescimento das raízes e desenvolvimento das

plantas, promover de forma geral a sanidade das plantas, além de potencializar o cultivo em condições de estresse ambiental (AGROSAFRA SEMENTES, 2013).

Conforme Kelecom (2001), extratos de algas apresentam compostos bioativos capazes de inibir o crescimento de fungos e bactérias, estimular o crescimento e fortalecer as defesas das plantas contra ataque de patógenos. Jenkins et al. (1998 apud Martins, 2006) identificaram ácido betainico gama-amonobutírico, ácido betaninico delta-aminovalérico e glicinobetaina em extratos de *A. nodosum*, associando os compostos à ação antimicrobiana dessa alga.

Segundo Abreu et al.(2008), somente as algas marrons, como *A. nodosum*, têm se mostrado eficientes no controle de doenças de plantas. Extratos derivados dessa alga estimulam as atividades das peroxidases e a síntese da fitoalexina capsidiol em plantas de pimentão e videira, acarretando em uma redução significativa do desenvolvimento do míldio (*Plasmopara viticola*), da videira (*Vitis* spp.) e da requeima (*Phytophthora capsici* Leonian) do pimentão (*Capsicum annuum* L.) em virtude da aplicação desse extrato (LIZZI et al., 1998 apud ABREU et al., 2008).

2.3.2.2.3 Óleo essencial de eucalipto (*Eucalyptus staigeriana* (F. Muell.)) no controle de doenças

O eucalipto (*Eucalyptus staigeriana*) é uma árvore de porte médio, pertencente à família Myrtaceae, cujo óleo essencial vem sendo utilizado por diversos pesquisadores no controle de agentes fitopatogênicos, dentre eles os fungos. Os principais compostos secundários presentes nesse óleo que lhes confere atividade antimicrobiana são o limoneno e citronelol (BONALDO et al., 2007; LUDWIG et al., 2007; MESQUITA, 2012).

Por serem substâncias voláteis, os óleos essenciais, como o de eucalipto, tornam-se mais propícios à degradação. Desta forma, têm sido buscadas técnicas que aumentem a vida útil desses produtos, como o encapsulamento desses materiais visando a protegê-los de fatores externos, como temperatura, umidade e

radiação ultravioleta, além de permitir uma liberação controlada dos seus componentes, garantindo o emprego da dosagem mais adequada, além de melhorar a eficácia de aditivos nos alimentos (LEIMANN, 2008; MESQUITA, 2012).

Ludwig et al. (2007), avaliando a eficiência de óleo essencial de eucalipto puro e do óleo de eucalipto diluído em etanol sobre o crescimento *in vitro* de fungos fitopatogênicos ao tomateiro, observaram que no caso de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ((Sacc.) W.C. Snyder and H. N. Hans) apenas o óleo de eucalipto puro apresentou efeito sobre seu crescimento, com uma redução de 11,8% do tamanho de suas colônias. No caso de *Corynespora cassiicola* (Berk. e Curt.), observou-se que o tratamento que reduziu significativamente foi o óleo de eucalipto diluído em etanol, com uma redução de 28,6% no seu crescimento colonial. Para o *Verticillium albo-atrum* (Reinke e Berthold), observou-se sensibilidade aos tratamentos avaliados: com o óleo puro, reduziu em 33,3% seu crescimento ao passo que com o óleo diluído em etanol reduziu em 27,1% seu crescimento colonial.

Bonaldo et al. (2007), avaliando o efeito de diferentes concentrações de óleo essenciais de eucalipto (0; 20; 40; 100; 500 e 1000 µL) no controle *in vitro* de fungos fitopatogênicos, observaram que a partir da alíquota de 20 µL houve 100% de inibição do crescimento micelial de *Sclerotium rolfsii* Sacc., *Phytophthora* sp., *Alternaria alternata* (Fr.:Fr) Keissl. e *Colletotrichum sublineolum* Henn. Para *Rhizoctonia solani*, a redução foi de 90%, e na concentração de 40 µL esse patógeno teve 100% de inibição do seu crescimento micelial, indicando potencial atividade antifúngica do óleo essencial de eucalipto no controle de determinados fungos fitopatogênicos.

Dias-arieira et al. (2010), avaliando a atividade do óleo de eucalipto (*Eucalyptus citriodora* Hooker M.) em diferentes concentrações (0; 0,25; 0,5; 1; 1,5%) no controle *in vitro* de *Colletotrichum acutatum*, verificaram que as concentrações de 1 e 1,5% proporcionaram maiores reduções (91,1%) no crescimento micelial do patógeno, não diferindo significativamente entre si.

REFERÊNCIAS

ABREU, G. F.; TALAMINI, V.; STADNIK, M. J. Bioprospecção de macroalgas marinhas e plantas aquáticas para o controle da antracnose do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, n. 1, p. 78-82, 2008.

AGROSAFRA SEMENTES. **Acadian**. Disponível em: <<http://www.agrosafra.agr.br/site/produtos/fertilizantes/especialidades/acadian.htm>>. Acesso em: 08 de nov. 2013.

ARAÚJO, J. A. M.; COSTA, E. M. C. Compostos derivados de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) n controle de agentes fitopatogênicos. In.: OLIVEIRA, V. R.; NOGUEIRA, N. W.; FREITAS, R. M. O.; COSTA, E. M.; ARAÚJO, J. A. M. (Eds.). **Nim** (*Azadirachta indica* A. Juss): Aspectos gerais da propagação, cultivo e usos no controle de insetos-praga e doenças. Offset Editora, 1º Edição, 68p., 2013.

BONALDO, S. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S.; FIORI-TUTIDA, A. C. G. Contribuição ao estudo das atividades antifúngica e elicitora de fitoalexinas em sorgo e soja por eucalipto (*Eucalyptus citriodora*). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 4, p. 383-387, 2007.

BOTELHO, S. A.; RAVA, C. A.; LEANDRO, W. M. Supressividade induzida a *Rhizoctonia solani* pela adição de diferentes resíduos vegetais. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 1, p. 35-42, 2001.

BRUTON, B. D.; ZHANG, Z. X.; MILLER, M. E. *Fusarium* species causing cantaloupe fruit rot in the Lower Rio Grande Valley of Texas. In: MILLER et al. (Eds.) **Annual research report**. Welasco: Texas Agricultural Experiment Station, p. 17-24, 1998.

BUENO JÚNIOR, C. Métodos de preservação para fungos fitopatogênicos habitantes do solo. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 3, n. 2, 2006. Disponível em: <www.apta regional.sp.gov.br>. Acesso em: 09 de nov. 2013.

BUFFON, R. B.; SÁ, L. V.; SHALDERS, G.; TAVARES, D. F.; CRUZ, T. P.; RABELLO, L. K. C. Efeito de extratos de cravo da Índia e pimenta malagueta no controle *in vitro* do *Colletotrichum gloeosporioides*. **XIII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e IX Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale da Paraíba**. Trabalho apresentado, São José dos Campos, 2009.

CAMPOS, D. A.; RIBEIRO, A. C.; COSTA, E. M.; FERNADES, J. C.; TAVARIA, F. K.; ARARUNA, F. B.; EIRAS, C.; EATON, P.; LEITE, J. R. S. A.; PINTADO, M. M. Study of antimicrobial activity and atomic force microscopy imaging of the action mechanism of cashew tree gum. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, p. 270-274, 2012.

CARNELOSSI, P. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; MESQUINI, R. M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 399-406, 2009.

CARNEIRO, S. M. T. P. G.; PIGNONI, E.; VASCONCELLOS, M. E. C.; GOMES, J. C. Eficácia de extratos de nim para o controle do oídio do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 1, p. 34-39, 2007.

CARREIRA, C. M.; PEREIRA, C. A.; BOMBANA, A. C.; JORGE, A. O. C. Eficácia antimicrobiana das nanopartículas de prata sobre esporos, leveduras e bactérias. **XIII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e IX Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba**. Trabalho apresentado, São José dos Campos, 2009.

CARVALHO, G. A.; SANTOS, N. M.; PEDROSO, E. C.; TORRES, A. F. Eficiência do óleo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) no controle de *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758) e *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) em couve – manteiga *Brassica oleracea* Linnaeus Var. *Acephala*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, n. 2, p. 181-186, 2008.

CASTRO, C. V. B. Caracterização morfológica e molecular de isolados de *Rhizoctonia solani* Kuhn. Universidade Federal Rural da Amazônia, **Dissertação de Mestrado**, Belém, 2007.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de Frutos e Hortaliças**. Fisiologia e Manuseio. 2 ed. Lavras: FAPE, 2005.

COPPING, L. G.; DUKE, S. O. Natural products that have been used commercially as crop protection agents. **Pest Management Science**, v. 63, p. 524-554, 2009.

CORDEIRO, Z. J. M.; KIMATI, H. Doenças da bananeira. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. & REZENDE, J. A.M. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3. ed. v. 2. São Paulo: Agronômica Ceres, p. 112-136, 1997.

CUPERTINO, L. F. Modelagem do módulo de Young em nanocompósitos através de Inteligência Computacional. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC – Rio), **Dissertação de Mestrado**, 2009.

DANTAS, S. A. F.; OLIVEIRA, S. M. A.; MICHEREFF, S. J.; NASCIMENTO, L. C.; GURGEL, L. M. S.; PESSOA, W. R. L. S. Doenças fúngicas pós-colheita em mamões e laranjas comercializados na central de abastecimento do Recife. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 5, p. 528-533, 2003.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; FERREIRA, L. R.; ARIEIRA, J. O.; MIGUEL, E. G.; DONEGA, M. A.; RIBEIRO, R. C. F. Atividade do óleo de *Eucalyptus citriodora* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum acutatum* em morangueiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 36, n. 3, p. 228-232, 2010.

DIAS, R. C. S.; TERAPO, D. Doenças das cucurbitáceas. In: OLIVEIRA, S. M. A. et al. (Eds.). **Patologia pós-colheita: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais**. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, p. 595-627, 2006.

FERREIRA, F.A. **Patologia Florestal**: principais doenças florestais no Brasil. Viçosa, MG, UFV, SIF, p. 570, 1989.

FERREIRA, F. A. Queima foliar do eucalipto por *Rhizoctonia solani* em jardim clonal e plantas no campo na região Amazônica. **Fitopatologia Brasileira**, v. 16, p. 36, 1991.

FISCHER I. H.; TOFFANO L.; LOURENÇO A. S.; AMORIM, L. Caracterização dos danos pós-colheita em citros procedentes de “packing house”. **Fitopatologia Brasileira**, p. 304-310, 2007.

FREIRE, F. C. O. Doenças atuais e potenciais das principais fruteiras e flores ornamentais do Nordeste. **Fitopatologia Brasileira**, Lavras, v. 31, suplemento, p. 38-44, 2006.

FURLANETO, F. P. B. Nanotecnologia no setor agropecuário. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 8, n. 2, 2011. Disponível em: <www.apta regional.sp.gov.br>. Acesso em: 18 de mar. 2013.

GARCIA, R. A.; JULIATTI, F. C.; BARBOSA, K. A. G.; CASSEMIRO, T. A. Atividade antifúngica de óleo e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 1, p. 48-57, 2012.

GIOVANNINI, C.; ANDRADE, N.; VALENZUELA, E.; CASTRO, I.; CONTERAS, A. Caracterización morfológica y patogénica de *Rhizoctonia solani* Kühn a partir de tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) provenientes de diferentes predios de la x región de Chile. **IDESIA (Chile)**, v. 23, n. 1, 2005.

GOMES, M. S. O. Conservação pós-colheita: Frutas e Hortaliças. Brasília: **EMBRAPA-SPI**, p. 9-12, 1996.

GULLINO, M. L. Lotta biológica a funghi agenti de arciumi della frutta in post-raccolta. **Informatore Fitopatologico**, v. 4, p. 5-13.

HILLOCKS, R. J.; WALLER, J. M. Soilborne diseases of tropical crops. Wallingford, **CAB International**, 1997.

JENKINS, T.; BLUNDEN, G.; HANKINS, S. D.; GABRIELSEN, B. O. Are the reductions in nematode attack on plants treated with seaweed extracts the result of stimulation of the formaldehyde cycle? **Acta Biologica Hungarica**, v. 49, p. 421-427, 1998.

KELECOM, A. Secondary metabolites from marine microoganism. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 74, n. 1, 2002.

KIM, S. W.; KIM, K. S.; LAMSAL, K.; KIM, Y.; KIM, S. B.; JUNG, M.; SIM, S.; KIM, H.; CHANG, S.; KIM, J. K.; LEE, Y. S. An *in vitro* study of the antifungal effect of silver nanoparticles on oak wilt pathogen *Raffaelea* sp. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 19, n. 8, p. 760-764, 2009.

KIM, S. W.; JUNG, J. H.; LAMSAL, K.; KIM, Y. S.; MIN, J. S.; LEE, Y. S. Antifungal effects of silver nanoparticles (AgNPs) against various plant pathogenic fungi. **Mycobiology**, v. 40, n. 1, p. 53-58, 2012.

KOYAMA, R.; BETTONI, M. M.; RODER, C.; ASSIS, A. M.; ROBERTO, S. R.; MÓGOR, A. F. Extrato da alga *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis no desenvolvimento vegetativo e na produção do tomateiro. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 55, n. 4, p. 282-287, 2012.

LEIMANN, F. V. Microencapsulação de óleo essencial de capim limão utilizando o processo de coacervação simples. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 98f., 2008.

LIZZI, Y.; COULOMB, C.; COULOMB, P. J.; COULOMB, P. O.; POLIAN, C. L'algue face au Mildiou: que avenir? **Phytoma**, Paris, v. 508, p. 29-30, 1998.

LUDWIG, J.; MOURA, A. B.; ZANATTA, Z. G. C. N.; ZANANDREA, I.; SANTOS, J.; BOSENBECKER, V. K. Ação do óleo essencial de eucalipto sobre o crescimento *in vitro* de fungos fitopatogênicos ao tomateiro. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 1, p. 435-438, 2007.

MACHADO, R. M. A.; MUSSI-DIAS, V.; SOUZA, C. L. M.; SILVA, L. B.; FREIRE, M. G. M. Avaliação de óleos essenciais sobre o crescimento *in vitro* do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. **Perspectivas online: Ciências Biológicas e da Saúde**, Campos dos Goytacazes, v. 8, n. 3, p. 64-75, 2013.

MAQBOOL, M.; ALI, A.; RAMACHANDRAN, S.; SMITH, D. R.; ALDERSON, P. G. Control of postharvest anthracnose of banana using a new edible composite coating. **Crop Protection**, v. 29, p. 1136-1141, 2010.

MARI, M.; GUIZZARDI, M. The postharvest phase: emerging technologies for the control of fungal diseases. **Phytopasitica**, Bet Dagan, v. 26, p. 59-66, 1998.

MARTINEZ, S. S. Composição do nim. In: Martinez, S. S. **O nim – *Azadirachta indica***: natureza, usos múltiplos, produção. Londrina: Instituto Agrônômico do Paraná, p. 23-30, 2002.

MARQUES, M. R.; ALBUQUERQUE, L. M. B.; XAVIER-FILHO, J. Antimicrobial and insecticidal activities of cashew tree gum exudate. **Annals of Applied Biology**, v. 121, n. 2, p. 371-377, 1992.

MARTINS, D. A. Uso de extratos à base de algas para controlar a antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) e a ferrugem (*Uromyces appendiculatus*) do feijoeiro. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Agronomia, **Monografia**, 2006.

MATIAS, F. I.; SAMPAIO, M. V.; COELHO, L.; GRAZIA, J. Occurrence of *Scaptocoris castanea* Perty (Hemiptera: Cydnidae) damaging *Azadirachta indica* (Meliaceae) seedlings in Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 40, n. 2, p. 288-289, 2011.

MELLO, A. F. S.; LOURENÇO, S. A.; AMORIM, L. Alternative products in the in vitro inhibition of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Scientia Agricola**, v. 62, n. 2, p. 179-183, 2005.

MESQUITA, M. A. Atividade do óleo essencial encapsulado de *Eucalyptus staigeriana* sobre nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, p. 48, 2012.

MICHEREFF, S. J. Controle químico de doenças de plantas. In.: MICHEREFF, S. J. **Fundamentos da Fitopatologia**. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia, Recife, p. 134-145, 2001.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (Editores) Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais. UFRPE, Recife, **Imprensa Universitária**, 2005.

MOURA, R. E. Síntese de nanopartículas à base de goma do cajueiro para aplicação em sistemas de liberação de fármacos. Universidade Federal do Ceará, **Dissertação de Mestrado**, Fortaleza, 2009.

MOSSINI, S. A. G.; KEMMELMEIER, C. A árvore Nim (*Azadirachta indica* A. Juss): Múltiplos usos. **Acta Farm. Bonaerense**, v. 24, n. 1, p. 139-148, 2005.

NEVES, E. J. M.; CARPANEZZI, A. A. O cultivo do nim para produção de frutos no Brasil. **EMBRAPA**, Circular Técnica 162, 2008. Disponível em: <<http://www.cnpf.embrapa.br/publica/cirtec/edicoes/circ-tec162.pdf>>. Acesso em: 05 de jul. 2013.

OFORI-KWAKYE, K.; ASANTEWAA, Y.; KIPO, S. L. Physicochemical and binding properties of cashew tree gum in metronidazole tablet formulations. **International Journal of pharmacy and pharmaceutical sciences**, vol. 2, suppl. 4, p. 105-109, 2010.

OLIVEIRA, L. A. A.; GÓES, G. B.; MELO, I. G. C.; COSTA, M. E.; SILVA, R. M. Uso do extrato de algas (*Ascophyllum nodosum*) na produção de mudas de maracujazeiro-amarelo. **Revista Verde**, v. 6, n. 2, p. 01-04, 2011.

ONESIROSAN, P. T. Seed borne and weedborne inoculum in web-blight of cowpea. **Revista Plant Disease**. Repr., v. 59, n. 4, p. 338-339, 1975.

PIATI, A.; SCHNEIDER, C. F.; NOZAKI, M. H. Efeito *in vitro* do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre o crescimento e desenvolvimento de *Penicillium* sp. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 3, p. 1033-1040, 2011.

PIGNONI, E.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Severidade da antracnose em feijoeiro e pinta preta em tomateiro sob diferentes concentrações de óleo de nim em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 1, p. 68-72, 2005.

PRITHIVIRAJ, B.; SINGH, U. P.; SINGH, K. P.; PLANK-SCHUMACHER, K. Field evaluation of ajoene, a constituent of garlic (*Allium sativum*) and neemazal, a product of neem (*Azadirachta indica*) for the control of powdery mildew (*Erysiphe pisi*) of pea (*Pisum sativum*). **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, Stuttgart, v. 105, n. 3, p. 274-278, 1998.

RAI, M. **Nanobiotecnologia verde**: biossínteses de nanopartículas metálicas e suas aplicações como nanoantimicrobianos. BARATA, G.; STÉFANI, D. (Tradutores). *Ciência e Cultura*, v. 5, n. 3, p. 44-48, 2003.

REZENDE, D. V.; FERREIRA, F. A. Epifitismo de linhagens de *Rhizoctonia solani* na doença queima de folhas do eucalipto. **Revista Fitopatologia Brasileira**, v. 17, p. 204, 1992.

REZENDE, J. A. M.; FANCELLI, M. I. Doenças do mamoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. & REZENDE, J. A. M. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3. ed. v. 2. São Paulo: Agronômica Ceres, p. 452-462, 1997.

RIBOLDI, B. M. **Nanotecnologia: Fundamentos e Aplicações**. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Departamento de Física – Instituto de Geociências e Ciências Exatas Campus de Rio Claro, 2009.

ROEL, A. R.; VENDRAMIM, J. D.; FRIGHETTO, R. T. S.; FRIGHETTO, N. Efeito do extrato acetato de etil de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) no desenvolvimento e sobrevivência da lagarta-do-cartucho. **Bragantia**, v. 59, n. 1, p. 53-58, 2000.

ROVESTI, L.; DI MARCO, S.; PANCALDI, D. Effect of neem kernel extract on some phytopathogenic fungi under greenhouse conditions. **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, Stuttgart, v. 99, n. 3, p. 293-296, 1992.

SANTOS, C. M. W.; OLIVEIRA, M. A.; MACIEL, J. S.; DE PAULA, H. C. B.; FEITOSA, J. P. A.; DE PAULA, R. C. M. Síntese de nanopartículas de goma do cajueiro oxidada e quitosana. **32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2009.

SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. **Annual Review of Entomology**, v. 35, p. 271-297, 1990.

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO (SEAB). Departamento de Economia Rural. Fruticultura – **Análise da Conjuntura Agropecuária**, 2012.

SILVA, A. B.; BATISTA, J. L.; BRITO, C. H. Atividade inseticida do nim (*Azadirachta indica* A. Juss). **Revista verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 4, n. 4, p. 07-15, 2009.

SILVA, R. A.; PEREIRA, R. E. A.; NAKANO, M. A. S. Inibição do crescimento micelial e germinação de *Colletotrichum gloeosporioides* na seringueira pelo óleo de neem (*Azadirachta indica*). **Nucleus**, v. 8, n. 1, p. 295-304, 2011.

SILVA, M. C. C.; SILVA, R. A. O.; MARQUES, L. G. A.; FREITAS, R. M.; SANTOS, M. S. F.; SILVA FILHO, E. C.; PESSOA, C. O.; SANTOS, M. R. M. C. Prospecção tecnológica: aplicação da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale*) em nanotecnologia. **Revista GEINTEC**, v. 3, n. 4, p.55-59, 2013.

SILVEIRA, N. S. S.; MICHEREFF, S. J.; SILVA, I. L. S. S.; OLIVEIRA, S. M. A. Doenças fúngicas pós-colheita em frutas tropicais: patogênese e controle (Revisão). **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 18, n. 4, p. 283-299, 2005.

SINDHAN, G. S.; HOODA, I.; PARASHAR, R. D. Evaluation of plant extracts for the control of powdery mildew of pea. **Journal of Mycology and Plant Pathology**, New Delhi, v. 29, n. 2, p. 257-258, 1999.

SNOWDON, A L. A colour atlas of postharvest diseases e disorders of fruits e vegetables: general introduction & fruits. London: **Wolfe Scientific**, v. 1, p. 302, 1990.

STEINHAEUER, B. Possible ways of using the neem tree to control phytopathogenic fungi. **Plant Research and Development**, Hamburg, v. 50, p. 83-92, 1999.

SURESH, G. V.; GOPALAKRISHNAN, G.; MASILAMANI, S. Neem for plant pathogenic fungal control: the outlook in the new Millennium. In.: KOUL, O.; WAHAB, S. (Ed.). **Neem: Today and in the new Millennium**, p. 183-207, 2004.

TERAO, D.; OLIVEIRA, S. M. A.; VIANA, F. M. P.; SARAIVA, A. C. M. Estratégias de controle de podridões em pós-colheita de melão: uma revisão. **Embrapa Agroindústria Tropical**, p. 56, 2008.

TORQUATO, D. S.; FERREIRA, M. L.; SÁ, G. C.; BRITO, E. S.; PINTO, G. A. S.; AZEVEDO, E. H. F. Evaluation of antimicrobial activity of cashew tree gum. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 20, p. 505-507, 2004.

TUSET, J. J. Enfermedades durante la conservación. In. **Enfermedades de los cítricos, Monografía de la Sociedad Española de Fitopatología**, n. 2. Eds. Científicos: DURAN-VILA, N. e MORENO, P. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, Barcelona, México, 1996.

ZAMBOLIM, L.; COSTA, H.; VENTURA, J. A.; VALE, F. X. R.. Controle de doenças em pós-colheita de frutas tropicais. In: ZAMBOLIM L. (Ed.) **Manejo integrado: fruteiras tropicais – doenças e pragas**. Viçosa, UFV, p. 443-511, 2002.

CAPÍTULO II

NANOPARTÍCULAS NO CONTROLE *IN VITRO* DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

RESUMO

ARAÚJO, Jacquelinne Alves de Medeiros **NANOPARTÍCULAS NO CONTROLE *IN VITRO* DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS**, 2014. 21f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Mossoró-RN, 2014.

A nanotecnologia tem sido considerada um avanço tecnológico na área da agricultura, uma vez que pode ser usada desde produção de nanofertilizantes até nanocompósitos, visando aumentar a vida útil dos produtos. Entretanto, informações acerca do emprego dessa tecnologia no controle de fungos fitopatogênicos ainda são bastante escassas, diante disso o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de nanopartículas de prata (FDAg-12/90; FDAg-12/90-100; FDAgBH-100) e de nanopartícula de goma de cajueiro no controle *in vitro* de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum musae* e *Rhizoctonia solani*. Este capítulo foi dividido em nove experimentos, em que todos foram conduzidos em um delineamento inteiramente casualizado e realizados no Laboratório de Fitopatologia da UFERSA. Os resultados mostraram que entre as nanopartículas de prata, a FDAgBH-100 foi a que apresentou efeito inibitório sobre os patógenos, especialmente sobre *F. pallidoroseum* e *C. musae*, com, respectivamente, 15,68% e 14,08% de inibição, quando aplicada a alíquota de 100 µL. As nanopartículas de goma de cajueiro apresentaram ação inibitória, principalmente, sobre *C. musae* e *C. gloeosporioides*, com 7,46% e 8,95%, respectivamente, quando aplicado a concentração de 25% dessa nanopartícula. Diante disso, as nanopartículas de prata FDAgBH-100 e de goma de cajueiro, proporcionaram redução do crescimento micelial dos fungos, aumentando as perspectivas de novas pesquisas visando aprimorar e inserir o uso dessas substâncias no controle desses fitopatógenos.

Palavras-chave: Nanopartículas de prata. Nanopartícula de goma de cajueiro. Controle de doenças. Fitopatógenos.

ABSTRACT

ARAÚJO, Jacquelinne Alves de Medeiros. **NANOPARTICLES IN CONTROL IN VITRO PHYTOPATHOGENIC FUNGI**. 2014. 21f. Dissertation (M. Sc. in Agronomy, Plant Science) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Mossoró-RN, 2014.

Nanotechnology has been considered a technological breakthrough in agriculture since it can be used from production to nanofertilizantes, nanocomposites, aiming to increase the shelf life of products. However, information about the use of this technology for controlling pathogenic fungi are still quite scarce, before this, the objective of this study was to evaluate the efficiency of silver nanoparticles (FDAg-12/90; FDAg-12/90-100; FDAgBH-100) and nanoparticle cashew gum in the *in vitro* control of *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum musae* and *Rhizoctonia solani*. This chapter is divided into nine experiments, in which all were conducted in a completely randomized and performed in the Laboratory of Phytopathology UFERSA design. The results showed that among the silver nanoparticles, the FDAgBH-100 showed the inhibitory effect on the pathogens, especially on *F. pallidoroseum* and *C. musae*, with 15,68% and 14,08%, respectively of inhibition applied at the rate of 100 µL. Nanoparticles cashew gum had an inhibitory effect, especially on *musae* and *C. musae* and *C. gloeosporioides*, 7,46% and 8,95%, respectively, when applied to 25% of the concentration of nanoparticle. Therefore, silver nanoparticles FDAgBH-100 and cashew gum, further reduction of mycelial growth of fungi, raising the prospect of new research to enhance and embed the use of these substances in the control of these pathogens.

Keywords: Silver nanoparticles. Nanoparticle cashew gum. Control of disease. Phytopathogens.

1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia compreende a produção de compostos, a partir de átomos, na escala dos nanômetros, que representam a bilionésima parte do metro (10^{-9} m) (RAI, 2003; FURLANETO, 2011). Segundo Riboldi (2009), esta inovação tecnológica vem sendo empregada em diversas áreas, como na Física, Química, Biologia, Engenharia de Materiais, Eletrônica, Medicina e, mais recentemente, desponta como uma inovação tecnológica na Agricultura.

Na agricultura, a nanotecnologia pode ser aplicada na produção de nanofertilizantes, nanocidas ou pesticidas encapsulados em nanopartículas, podendo ainda ser utilizada na produção de nanocompósitos e nanobiocompósitos para produção de revestimentos, películas plásticas, usados em embalagens de alimentos visando ao aumento da vida útil de frutos (FURLANETO, 2011).

Diversos nanocompósitos podem ser usados na agricultura, como é o caso das nanopartículas de prata, que possuem ampla atividade antimicrobiana, podendo ser utilizadas contra bactérias, fungos filamentosos, leveduras e vírus, de modo que o mecanismo de ação dessas nanopartículas depende tanto das dimensões das partículas quanto do tipo de micro-organismo envolvido (SEGALA et al., 2012).

Entretanto, estudos sobre o efeito de nanopartículas no controle *in vitro* de fungos fitopatogênicos ainda são extremamente escassos no Brasil, especialmente quando aplicados de forma isolada, sem adição de fungicidas. Contudo, resultados satisfatórios visando à utilização de nanopartículas de prata no controle de fungos fitopatogênicos já foram relatados na literatura em outras regiões do mundo (KIM et al., 2009; KIM et al., 2012).

Kim et al. (2009), avaliando o efeito antifúngico de três nanopartículas de prata (CV-WA13; AT-WB13R; PR-WB13) no controle *in vitro* de *Raffaelea* sp., verificaram que o crescimento do fungo foi significativamente inibido, de modo que quanto maior a dose menor foi o crescimento de hifas do fungo, havendo efeitos prejudiciais das nanopartículas de prata sobre a germinação dos conídios do fungo.

Segundo Silva et al. (2013), considerando a escassez de trabalhos sobre o assunto, emprego da goma de cajueiro na nanotecnologia representará importante avanço tecnológico. Os trabalhos existentes sobre nanopartículas de goma de cajueiro estão relacionados à sua síntese (MOURA et al., 2009; SANTOS et al., 2009) e não diretamente à sua aplicação na área da agricultura, mais especificamente visando o controle de agentes fitopatogênicos.

Campos et al. (2012), avaliando a atividade antimicrobiana de goma de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) bruta e purificada sobre o fungo *Candida albicans* (Robin) Berkhout, não observaram atividade antifúngica sobre o patógeno analisado.

Portanto, diante da escassez de informações sobre o emprego de nanopartículas no controle de fungos fitopatogênicos, o objetivo deste trabalho é avaliar a eficiência das nanopartículas de prata (FDAg-12/90; FDAg-12/90-100; FDAgBH-100) e da nanopartícula de goma de cajueiro no controle *in vitro* de *Fusarium pallidoroseum* (Cooke) Sacc., *Colletotrichum musae* (Berk. & Curtis) Arx, *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. & Sacc. e *Rhizoctonia solani* Kuhn.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LOCAL DA REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS E AQUISIÇÕES DOS MATERIAIS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fitopatologia II da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Departamento de Ciências Vegetais, Campus Mossoró–RN.

As nanopartículas de prata (FDAg-12/90; FDAg-12/90-100; FDAgBH-100) e a nanopartícula de goma de cajueiro foram sintetizadas e fornecidas pelo Laboratório de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza–CE.

Os isolados de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum musae* e *Fusarium pallidroseum* foram oriundos da Coleção Maria Menezes da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife–PE, ao passo que o isolado de *Rhizoctonia solani* foi obtido mediante isolamento de raízes de meloeiro realizado no Laboratório de Fitopatologia II da UFERSA.

2.2 DESCRIÇÃO DOS EXPERIMENTOS

O capítulo II foi dividido em nove experimentos realizados no Laboratório de Fitopatologia II da UFERSA. Os nove experimentos conduzidos foram:

- Experimento I: Nanopartículas de prata (FDAg-12/90 e FDAg-12/90-100) no controle *in vitro* de *F. pallidroseum*;
- Experimento II: Nanopartículas de prata (FDAgBH-100) no controle *in vitro* de *F. pallidroseum*;
- Experimento III: Nanopartículas de prata (FDAgBH-100) no controle *in vitro* de *C. musae*;
- Experimento IV: Nanopartículas de prata (FDAgBH-100) no controle *in vitro* de *C. gloeosporioides*;

- Experimento V: Nanopartículas de prata (FDAgBH-100) no controle *in vitro* de *R. solani*;
- Experimento VI: Nanopartículas de goma de cajueiro no controle *in vitro* de *F. pallidoroseum*;
- Experimento VII: Nanopartículas de goma de cajueiro no controle *in vitro* de *C. musae*;
- Experimento VIII: Nanopartículas de goma de cajueiro no controle *in vitro* de *C. gloeosporioides*;
- Experimento IX: Nanopartículas de goma de cajueiro no controle *in vitro* de *R. solani*.

2.2.1 Experimento I: Nanopartículas de prata FDAg-12/90 e FDAg-12/90-100 no controle *in vitro* de *Fusarium pallidoroseum*

Este experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado composto por cinco tratamentos (Testemunha; 12 mL de FDAg 12/90; 12 mL de FDAg 12/90-100; 6 mL de FDAg 12/90-100; 12 mL de FDAg 12/90-100 sem autoclavagem) e seis repetições, cujos tratamentos foram obtidos com base na disponibilidade de material, e o experimento foi realizado com base na metodologia utilizada por Qian et al. (2010).

Inicialmente, foi realizada a adição das diferentes concentrações das nanopartículas de prata FDAg-12/90 e FDAg-12/90-100 em um erlenmeyer contendo 100 mL do meio de cultura B.D.A. (batata-dextrose-ágar). Em seguida, foi realizada a autoclavagem desse material por um período de quinze minutos a uma temperatura de 121°C, exceto para o primeiro tratamento (testemunha), e para o quinto tratamento (12 mL de FDAg-12/90-100 sem autoclavagem), sendo nestes casos autoclavado apenas o meio de cultura. No caso do tratamento cinco, após a autoclavagem do B.D.A., foi adicionada ao meio de cultura, dentro da capela de fluxo laminar, a concentração de 12 mL de FDAg-12/90-100 sob constante agitação. Posteriormente, o material foi vertido em placas de Petri com nove

centímetros de diâmetro, no centro das quais foi repicado um disco de 0,5 cm de diâmetro de *F. pallidoroseum*. As placas foram mantidas em B.O.D. a uma temperatura de 27 °C durante seis dias, período necessário para que o crescimento colonial do patógeno, na testemunha, ocupasse toda a placa de Petri.

2.2.2 Experimentos que utilizaram as nanopartículas de prata (FDAgBH-100) no controle *in vitro* de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani*, respectivamente experimentos II, III, IV e V

Os experimentos foram conduzidos em um delineamento inteiramente casualizado com oito tratamentos (0; 1; 5; 10; 15; 25; 50 e 100 µL de FDAgBH-100) e quatro repetições. A determinação dos tratamentos foi baseada na disponibilidade de material, e os experimentos realizados conforme a metodologia usada por Carnellosi et al. (2009).

Para verificar o efeito da nanopartícula de prata FDAgBH-100 sobre o crescimento micelial de *F. pallidoroseum* (Experimento II), *C. musae* (Experimento III), *C. gloeosporioides* (Experimento IV) e *R. solani* (Experimento V), alíquotas de 1; 5; 10; 15; 25; 50 e 100 µL da nanopartícula foram colocadas, com o auxílio de uma pipeta automática, no centro de placas de Petri com nove centímetros de diâmetro contendo o meio de cultura B.D.A., e distribuídas sobre a superfície do meio com o auxílio da alça de Drigalsky. Após duas horas, um disco de 0,5 cm de diâmetro do patógeno, referente a cada experimento, foi repicado para o centro das placas de Petri, as quais foram mantidas em B.O.D. a uma temperatura de 27°C durante o período necessário para que o crescimento colonial do patógeno, na testemunha, ocupasse toda a placa, o qual variou conforme o patógeno avaliado, *F. pallidoroseum* (oito dias); *C. musae* (seis dias); *C. gloeosporioides* (sete dias) e *R. solani* (três dias).

2.2.3 Experimentos que utilizaram nanopartículas de goma de cajueiro no controle *in vitro* de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani*, respectivamente experimentos VI, VII, VIII e IX

Os experimentos foram conduzidos em um delineamento inteiramente casualizado com sete tratamentos (0; 1; 5; 10; 15; 20 e 25% da nanopartícula de goma de cajueiro) e quatro repetições. A determinação dos tratamentos foi baseada na disponibilidade de material, e os experimentos realizados conforme a metodologia usada por Maqbool et al. (2010).

Para avaliar a eficiência das nanopartículas de goma de cajueiro (*Anarcadium occidentale* L.) no controle *in vitro* de *F. pallidoroseum* (Experimento VI), *C. musae* (Experimento VII), *C. gloeosporioides* (Experimento VIII) e *R. solani* (Experimento IX), foi realizada inicialmente a diluição das diferentes concentrações das nanopartículas de goma de cajueiro, referentes a cada tratamento, em um erlenmeyer contendo 250 mL do meio de cultura B.D.A. (batata-dextrose-ágar).

Posteriormente, foi realizada a autoclavagem desse material por um período de quinze minutos a uma temperatura de 121°C, com exceção do primeiro tratamento (testemunha), que não continha a nanopartícula, sendo autoclavado apenas o meio de cultura.

Em seguida, o material foi vertido em placas de Petri descartáveis com 8,5 centímetros de diâmetro, no centro das quais foi repicado um disco de 0,5 cm de diâmetro do patógeno, referente a cada experimento. As placas de Petri foram mantidas em B.O.D. a uma temperatura de 27°C durante o período necessário para que o crescimento colonial do patógeno, na testemunha, ocupasse toda a placa. O referido período foi variável de acordo com cada patógeno: *F. pallidoroseum* (sete dias); *C. musae* (seis dias); *C. gloeosporioides* (seis dias) e *R. solani* (três dias).

2.3 AVALIAÇÕES DOS TRATAMENTOS E ANÁLISE DOS DADOS

A avaliação da eficiência das nanopartículas de prata (FDAg-12/90; FDAg-12/90-100; e FDAgBH-100) e a de goma de cajueiro no controle *in vitro* de *F. pallidoroseum*, *C. musae*, *C. gloeosporioides* e *R. solani* foi realizada diariamente por meio da medição, com o auxílio de um paquímetro, do diâmetro longitudinal e transversal do crescimento micelial do patógeno, conforme apresentado na figura abaixo (Figura 1).

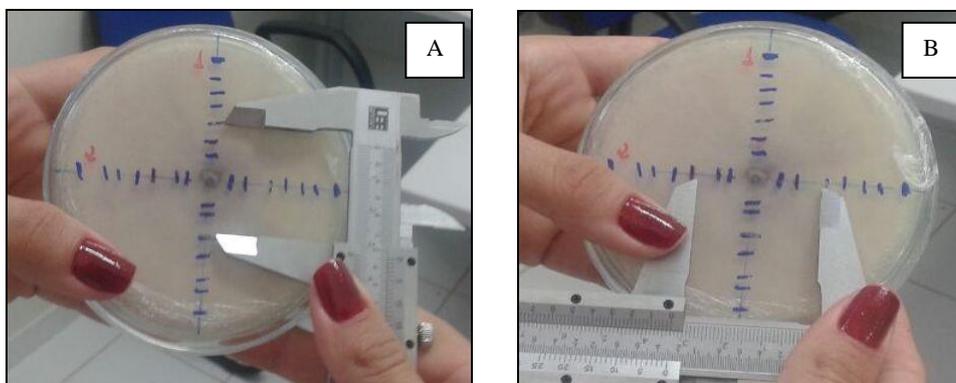


Figura 1 - Medição do crescimento micelial dos fungos fitopatogênicos por meio de um paquímetro para realização do cálculo do crescimento radial do patógeno. A – Medição do Diâmetro Longitudinal. B – Medição do Diâmetro Transversal.

Após a obtenção do diâmetro colonial do patógeno foi realizado o cálculo do Crescimento Radial (CR) do fungo utilizando a fórmula proposta por Fortí (1997), em que:

$$CR = \frac{DM - 0,5}{2}$$

Onde:

DM: Média dos diâmetros longitudinal e transversal do crescimento colonial do patógeno;

0,5: Diâmetro do disco do isolado do patógeno que foi colocado sobre as placas de Petri.

Em seguida, realizado o cálculo do crescimento radial diário, que foi calculado pela seguinte fórmula:

$$\text{CRd} = \frac{\text{CR}}{n}$$

Onde:

CR: Crescimento radial do fungo calculado utilizando a fórmula proposta por Fortí (1997);

n: Número de dias necessário para que o crescimento colonial do patógeno ocupasse toda a placa de Petri.

Além disso, foi calculado o percentual de inibição do crescimento micelial (PIC) conforme a fórmula utilizada por Hillen et al. (2012), em que:

$$\text{PIC} = \frac{(\text{Crescimento da testemunha} - \text{Crescimento do tratamento}) * 100}{\text{Crescimento da testemunha}}$$

Os dados obtidos dos crescimentos radiais diários dos patógenos foram submetidos à análise de variância, por meio do programa estatístico “R” (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011), e quando os valores de “F” foram significativos, foi realizado o ajuste dos dados a modelos matemáticos por meio da análise de regressão, utilizando o programa Table Curve.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 NANOPARTÍCULAS DE PRATA FDAg-12/90 E FDAg-12/90-100 NO CONTROLE *IN VITRO* DE *Fusarium pallidorozeum*

Após realização da análise de variância (Apêndice I), não foi verificado efeito significativo dos tratamentos ($Pr > 0,05$), ou seja, nenhuma das concentrações das nanopartículas de prata (FDAg-12/90 e FDAg-12/90-100) apresentou redução no crescimento micelial de *F. pallidorozeum*, não diferindo estatisticamente do tratamento testemunha.

O comportamento semelhante observado para o crescimento radial do fungo entre a testemunha e os demais tratamentos possivelmente está relacionado ao uso da nanopartícula de forma isolada, às dimensões das partículas utilizadas ou ao tipo de micro-organismo envolvido (RAI et al., 2009; SAHAYARAJ e RAJESH, 2011; SEGALA et al., 2012).

3.2 NANOPARTÍCULA DE PRATA FDAgBH-100 NO CONTROLE *IN VITRO* DE *Fusarium pallidorozeum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* E *Rhizoctonia solani*

Foi observado efeito significativo (Apêndices II A; II B; II C e II D) da nanopartícula de prata FDAgBH-100 sobre o crescimento micelial de *F. pallidorozeum*, *C. musae*, *C. gloeosporioides* e *R. solani*. Para todos os patógenos, foi possível observar que a alíquota de 100 μ L resultou em maior percentual de inibição (Tabela 1 e Figura 2), sendo a maior eficiência observada sobre *F. pallidorozeum* e *C. musae*, com 15,68% e 14,08% de inibição do crescimento micelial, respectivamente. Observou-se ainda que o menor controle obtido foi sobre o *C. gloeosporioides*, no qual se pode observar que as alíquotas de 1; 5; 10 e 15 μ L não diferiram da testemunha, não apresentando efeito sobre o crescimento

micelial desse fitopatógeno. Para *R. solani*, observou-se que as alíquotas de 1 e 5 µL não apresentaram efeito inibitório sobre seu crescimento, não diferindo, portanto, da testemunha. Além disso, as alíquotas de 10; 15 e 25 µL proporcionaram o menor efeito, com uma inibição de apenas 1,41%, e não apresentaram diferenças entre si.

Tabela 1 - Crescimento radial diário (médias) e percentual de inibição do crescimento micelial de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani* expostos a diferentes alíquotas de nanopartículas de prata FDAgBH-100 durante oito, seis, sete e três dias, respectivamente.

Alíquotas (µL)	<i>Fusarium pallidoroseum</i>		<i>Colletotrichum musae</i>		<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>		<i>Rhizoctonia solani</i>	
	CRd ¹ (cm)	PIC ² (%)	CRd ¹ (cm)	PIC ² (%)	CRd ¹ (cm)	PIC ² (%)	CRd ¹ (cm)	PIC ² (%)
0	0,51	-	0,71	-	0,62	-	1,42	-
1	0,50	1,96	0,69	2,81	0,62	0	1,42	0
5	0,50	1,96	0,68	4,22	0,62	0	1,42	0
10	0,47	7,84	0,68	4,22	0,62	0	1,40	1,41
15	0,47	7,84	0,68	4,22	0,62	0	1,40	1,41
25	0,47	7,84	0,68	4,22	0,61	1,61	1,40	1,41
50	0,47	7,84	0,67	5,63	0,61	1,61	1,39	2,11
100	0,43	15,68	0,61	14,08	0,59	4,84	1,30	8,45

¹ Crescimento Radial Diário. ² Percentual de inibição do crescimento micelial.

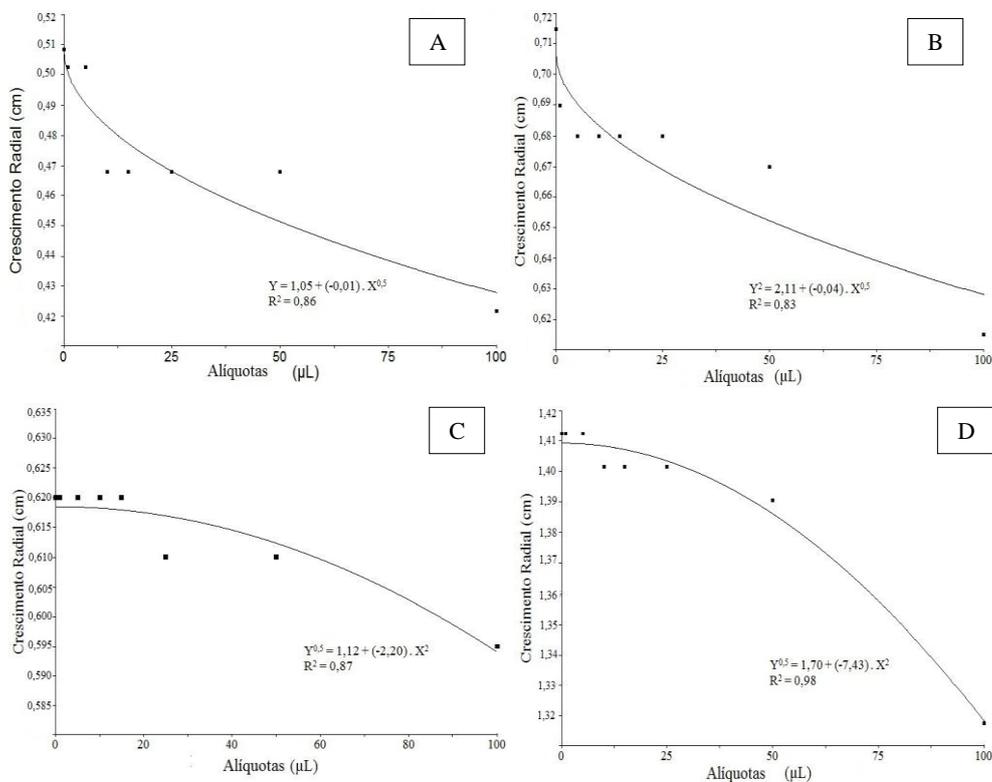


Figura 2 - Análise de regressão dos dados do crescimento radial diário de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani* expostos a diferentes alíquotas de nanopartículas de prata FDAgBH-100. A – *Fusarium pallidoroseum*. B – *Colletotrichum musae*. C – *C. gloeosporioides*. D – *Rhizoctonia solani*.

Apesar de não haver na literatura informações sobre o efeito fungicida ou fungistático da nanopartícula de prata FDAgBH-100 sobre o crescimento micelial de *F. pallidoroseum*, *C. musae*, *C. gloeosporioides* e *R. solani*, alguns trabalhos têm apresentado resultados satisfatórios sobre o efeito de outras nanopartículas de prata sobre diferentes fungos. De acordo com Rai (2003), as nanopartículas de prata apresentam amplo espectro de ação contra fungos, especialmente do gênero *Candida*, fato confirmado por Carreira et al. (2009) e Segala et al. (2012), os quais, avaliando o efeito da nanopartículas de prata sobre o crescimento de *Candida albicans* (Robin) Berkhout, observaram que elas proporcionaram inibição total do crescimento desse fitopatógeno.

Kim et al. (2009), avaliando o efeito antifúngico de nanopartículas de prata (CV-WA13; AT-WB13R; PR-WB13) no controle *in vitro* de *Raffaelea* sp., observaram que o crescimento do fungo foi significativamente inibido dependendo da dose aplicada (0; 5; 10 e 25 ppm), de modo que quanto maior a dose menor foi o crescimento de hifas do fungo, sendo observados efeitos prejudiciais das nanopartículas de prata sobre a germinação dos conídios.

Kim et al. (2012) avaliaram o efeito antifúngico de diferentes concentrações (10; 25; 50 e 100 ppm) de três nanopartículas de prata (WA-CV-WA13B; WA-AT-WB13R; WA-PR-WB13R) no controle *in vitro* de dezoito espécies de fungos fitopatogênicos, observando que a inibição total do crescimento da maioria dos patógenos foi observada na concentração de 100 ppm das nanopartículas, como é o caso de *Fusarium* sp., tendo a nanopartícula de prata WA-CV-WA13B apresentado maior potencial de inibição. Além disso, quando utilizada a concentração de 10 ppm, pode-se observar a menor taxa de inibição, que foi de 12,7% para o fungo *Glomerella cingulata* Stoneman, indicando que a atividade antifúngica dessas nanopartículas de prata depende de sua concentração.

Estes são, portanto, os primeiros resultados do efeito isolado da nanopartícula de prata FDAgBH-100 no controle dos fungos fitopatogênicos *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani*. Estes resultados servirão de base para novas pesquisas visando à inserção dessa tecnologia no manejo de doenças de plantas a partir da realização de novos estudos *in vitro* e posteriormente *in vivo*.

Salienta-se que estes estudos devem ser realizados isoladamente para cada patógeno, de vez que a ação fungicida das nanopartículas de prata, conforme mostrado por diversos pesquisadores (KIM et al. 2009; KIM et al., 2012), está associada à concentração aplicada dessa nanopartícula, bem como ao patógeno analisado.

3.3 NANOPARTÍCULA DE GOMA DE CAJUEIRO NO CONTROLE *IN VITRO* DE *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* E *Rhizoctonia solani*

Foi observado efeito significativo (Apêndices III A; III B; III C; e III D) da nanopartícula de goma de cajueiro sobre o crescimento micelial dos patógenos analisados. Os maiores percentuais de inibição foram observados na concentração de 25% dessa nanopartícula (Tabela 2 e Figura 3), principalmente sobre *C. musae* e *C. gloeosporioides*, os quais apresentaram percentual de inibição do crescimento de 7,46% e 8,95%, respectivamente.

Para *C. gloeosporioides*, as concentrações de 1; 5 e 10% da nanopartícula praticamente não afetaram o crescimento desse patógeno, não diferindo entre si. Observou-se ainda que as concentrações de 1; 5; 10 e 15% não apresentaram nenhum efeito inibitório sobre o crescimento micelial de *R. solani*; além disso, pode-se observar que quando aplicada a concentração de 25% sobre esse fitopatógeno, verificou-se o menor efeito inibitório da nanopartícula dentre os patógenos analisados, cujo percentual de inibição foi de apenas 3,75%.

Tabela 2 - Crescimento radial diário (médias) e percentual de inibição do crescimento micelial de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani* expostos a diferentes concentrações de nanopartículas de goma de cajueiro durante sete, seis, seis e três dias, respectivamente.

Concentrações (%)	<i>Fusarium pallidoroseum</i>		<i>Colletotrichum musae</i>		<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>		<i>Rhizoctonia solani</i>	
	CRd ¹	PIC ²	CRd ¹	PIC ²	CRd ¹	PIC ²	CRd ¹	PIC ²
	(cm)	(%)	(cm)	(%)	(cm)	(%)	(cm)	(%)
0	0,57	-	0,67	-	0,67	-	1,33	-
1	0,57	0	0,67	0	0,66	1,49	1,33	0
5	0,56	1,75	0,65	2,98	0,66	1,49	1,33	0
10	0,56	1,75	0,65	2,98	0,66	1,49	1,33	0
15	0,55	3,50	0,65	2,98	0,64	4,48	1,33	0
20	0,55	3,50	0,65	2,98	0,64	4,48	1,31	1,50
25	0,54	5,26	0,62	7,46	0,61	8,95	1,28	3,75

¹ Crescimento Radial Diário. ² Percentual de inibição do crescimento micelial.

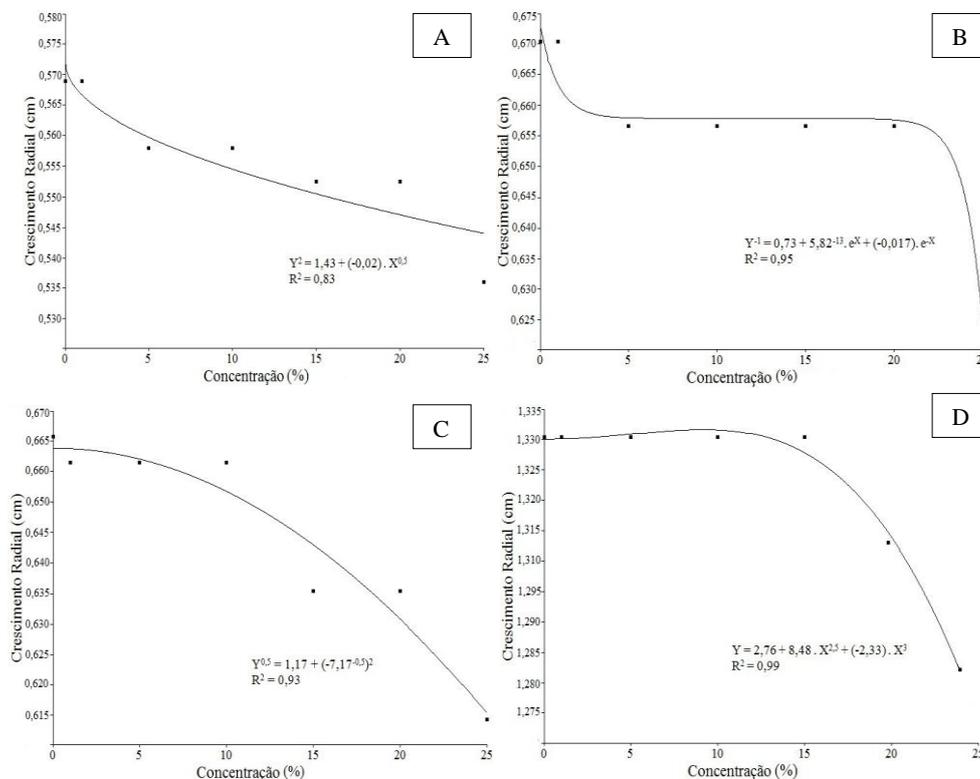


Figura 3 - Análise de regressão dos dados do crescimento radial diário de *Fusarium pallidroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani* expostos a diferentes concentrações de nanopartículas de goma de cajueiro. A – *Fusarium pallidroseum*. B – *Colletotrichum musae*. C – *Colletotrichum gloeosporioides*. D – *Rhizoctonia solani*.

Não existem informações na literatura sobre o controle dos fungos *F. pallidroseum*, *C. musae*, *C. gloeosporioides* e *R. solani* por meio da nanopartícula de goma de cajueiro. No entanto, alguns pesquisadores atribuem a atividade antimicrobiana da goma de cajueiro à presença de cadeias de polissacarídeos compostas por ácido glicurônico, e galacturônico (MARQUES et al., 1992; CAMPOS et al., 2012; SILVA et al., 2013).

Campos et al. (2012), avaliando a atividade antimicrobiana de goma de cajueiro bruta e purificada sobre bactérias e o fungo *Candida albicans* (Robin Berkhout, observaram que a goma de cajueiro bruta inibiu apenas as bactérias Gram-positivas ao passo que a goma de cajueiro purificada inibiu todos os microorganismos estudados, exceto *C. albicans* e *Lactobacillus acidophilus*

(Enpac), indicando que nos casos estudados nenhuma atividade fungicida sobre o patógeno analisado foi observada.

Entretanto, outros compostos vegetais semelhantes à goma de cajueiro – por possuírem compostos como ácido glicurônico e galacturônico – como a goma arábica, podem vir a ser empregados no controle de fungos fitopatogênicos, (MARQUES et al., 1992; CAMPOS et al., 2012; SILVA et al., 2013).

Maqbool et al. (2012), avaliando a ação fungicida de diferentes concentrações da goma arábica (5; 10; 15 e 20%) aplicada de forma isolada e em combinação com quitosana a 1% sobre *C. musae*, observaram que a goma arábica aplicada isoladamente não apresentou efeito fungicida; entretanto, quando aplicada combinada com quitosana, principalmente na concentração de 10% de goma arábica com 1% de quitosana, apresentou inibição total sobre o crescimento do patógeno e inibição de 92,5% sobre a germinação de esporos, indicando que essa combinação pode ser usada como biofungicida no controle da antracnose em bananeira.

Pesquisas realizadas com o emprego da goma de cajueiro na nanotecnologia estão relacionadas à síntese dessas nanopartículas e não diretamente à sua aplicação na agricultura, inclusive visando o controle de fitopatógenos. São estes, portanto, os primeiros resultados do efeito da nanopartícula de goma de cajueiro sobre *Fusarium pallidroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani* no Brasil.

Os resultados obtidos no presente trabalho servirão de base para novas pesquisas sobre o tema. De acordo com Silva et al. (2013), apesar da escassez de trabalhos sobre o emprego da goma de cajueiro na nanotecnologia, este tema representará importantes avanços tecnológicos em diferentes áreas do conhecimento.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As nanopartículas de prata FDAg-12/90 e FDAg-12/90-100 não apresentaram efeito sobre *Fusarium pallidoroseum*. As nanopartículas de prata FDAgBH-100 e de goma de cajueiro proporcionaram redução do crescimento micelial dos fungos *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani*, gerando perspectivas de novas pesquisas visando ao aprimoramento e à inserção destas substâncias no controle dos supracitados fitopatógenos.

REFERÊNCIAS

CAMPOS, D. A.; RIBEIRO, A. C.; COSTA, E. M.; FERNADES, J. C.; TAVARIA, F. K.; ARARUNA, F. B.; EIRAS, C.; EATON, P.; LEITE, J. R. S. A.; PINTADO, M. M. Study of antimicrobial activity and atomic force microscopy imaging of the action mechanism of cashew tree gum. **Carbohydrate Polymers**, 90, p. 270-274, 2012.

CARNELOSSI, P. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; MESQUINI, R. M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 399-406, 2009.

CARREIRA, C. M.; PEREIRA, C. A.; BOMBANA, A. C.; JORGE, A. O. C. Eficácia antimicrobiana das nanopartículas de prata sobre esporos, leveduras e bactérias. **XIII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e IX Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba**. Trabalho apresentado, São José dos Campos, 2009.

FORTÍ, J. A. Aspectos patológicos, epidemiológicos y culturales de *Acremonium cucurbitacearum* Alfaro-García, W. Gams et J. García-Jiménez. **Tesis doctoral**, Universidad Politécnica de Valencia, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Departamento de Producción Vegetal, Valencia, p. 183, 1997.

FURLANETO, F. P. B. Nanotecnologia no setor agropecuário. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 8, n. 2, 2011. Disponível em: <www.aptaregional.sp.gov.br>. Acesso em: 18 de mar. 2013.

HILLEN, T.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; MESQUINI, R. M.; CRUZ, M. E. S.; STANGARLIN, J. R.; NOZAKI, M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle de alguns fitopatógenos fúngicas *in vitro* e no tratamento de sementes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 3, p. 439-445, 2012.

KIM, S.W.; KIM, K. S.; LAMSAL, K.; KIM, Y.; KIM, S. B.; JUNG, M.; SIM, S.; KIM, H.; CHANG, S.; KIM, J. K.; LEE, Y. S. An *in vitro* study of the antifungal effect of silver nanoparticles on oak wilt pathogen *Raffaelea* sp. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 19, n. 8, p. 760-764, 2009.

KIM, S. W.; JUNG, J. H.; LAMSAL, K.; KIM, Y. S.; MIN, J. S.; LEE, Y. S. Antifungal effects of silver nanoparticles (AgNPs) against various plant pathogenic fungi. **Mycobiology**, v. 40, n. 1, p. 53-58, 2012.

MAQBOOL, M.; ALI, A.; RAMACHANDRAN, S.; SMITH, D. R.; ALDERSON, P. G. Control of postharvest anthracnose of banana using a new edible composite coating. **Crop Protection**, v. 29, p. 1136-1141, 2010.

MARQUES, M. R.; ALBUQUERQUE, L. M. B.; XAVIER-FILHO, J. Antimicrobial and insecticidal activities of cashew tree gum exudate. **Annals of Applied Biology**, v. 121, n. 2, p. 371-377, 1992.

MOURA, R. E. Síntese de nanopartículas à base de goma do cajueiro para aplicação em sistemas de liberação de fármacos. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal do Ceará, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Fortaleza, 2009.

QIAN, K.; SHI, T.; TANG, T.; ZHANG, S.; LUI, X.; CAO, Y. Preparation and characterization of nano-sized calcium carbonate as controlled release pesticide Carrier for validamycin against *Rhizoctonia solani*. © **Springer-Verlag**, p. 51-57, 2010.

RAI, M. **Nanobiotecnologia verde**: biossínteses de nanopartículas metálicas e suas aplicações como nanoantimicrobianos. BARATA, G.; STÉFANI, D. (Tradutores). *Ciência e Cultura*, v. 5, n. 3, p. 44-48, 2003.

RIBOLDI, B. M. **Nanotecnologia: Fundamentos e Aplicações**. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Departamento de Física – Instituto de Geociências e Ciências Exatas Campus de Rio Claro, 2009.

SANTOS, C. M. W.; OLIVEIRA, M. A.; MACIEL, J. S.; DE PAULA, H. C. B.; FEITOSA, J. P. A.; DE PAULA, R. C. M. Síntese de nanopartículas de goma do cajueiro oxidada e quitosana. **32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2009.

SAHAYARAJ, K.; RAJESH, S. Bionanoparticles: synthesis and antimicrobial applications. **Science against microbial pathogens: communicating current and technological advances**, 2011.

SEGALA, K.; BIZARRIA, M. T.; SILVA, A. S. F.; MARTINEZ, E. F.; MEI, L. H. I. Estudo comparativo do efeito antimicrobiano de nanopartículas de prata incorporadas em nanofibras eletrofiadas de quitosana/poli-óxido de etileno. **7º Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais (COLAOB)**, Natal, 2012.

SILVA, M. C. C.; SILVA, R. A. O.; MARQUES, L. G. A.; FREITAS, R. M.; SANTOS, M. S. F.; SILVA FILHO, E. C.; PESSOA, C. O.; SANTOS, M. R. M. C. Prospecção tecnológica: aplicação da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale*) em nanotecnologia. **Revista GEINTEC**, v. 3, n. 4, p-55-59, 2013.

CAPÍTULO III

ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE *IN VITRO* DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

RESUMO

ARAÚJO, Jacqueline Alves de Medeiros. **ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE *IN VITRO* DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS**, 2014. 22f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Mossoró-RN, 2014.

Doenças, especialmente fúngicas, tem ocasionado danos severos na produção brasileira. Apesar da principal forma de controle de doenças ser o controle químico, tem-se realizado estudos que avaliem controles alternativos, que não venham a acarretar riscos ao meio ambiente e nem à saúde humana, como é o caso de óleos de nim e de eucalipto. Entretanto, em virtude da escassez de informações do emprego destes no controle de determinados fungos fitopatogênicos, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência do óleo comercial de nim (Azamax) e do óleo essencial de eucalipto encapsulado com nanopartícula de goma de cajueiro no controle *in vitro* de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani*. Este capítulo foi dividido em oito experimentos, e todos conduzidos em um delineamento inteiramente casualizado e realizados no laboratório de Fitopatologia da UFERSA. Os resultados mostraram que o óleo de nim inibiu principalmente, *F. pallidoroseum* e *C. gloeosporioides*, com inibição de 17,64% e 15,18%, respectivamente, quando utilizada a alíquota de 150 µL desse óleo. Já o óleo essencial de eucalipto encapsulado com nanopartícula de goma de cajueiro apresentou efeito inibitório, quando utilizada a concentração de 25% do óleo, principalmente sobre *F. pallidoroseum* e *C. gloeosporioides*, proporcionando, respectivamente 12,28% e 10,00% de inibição do crescimento desses patógenos. Diante disso, tem-se que o óleo de nim e o óleo essencial de eucalipto encapsulado com nanopartícula de goma de cajueiro apresentaram resultados promissores no controle *in vitro* desses fungos fitopatogênicos.

Palavras-chave: Óleo de nim. Óleo essencial de eucalipto. Inibição de Crescimento. Fitopatógeno.

ABSTRACT

ARAÚJO, Jacqueline Alves de Medeiros. **ESSENTIAL OILS IN CONTROL IN VITRO PHYTOPATHOGENIC FUNGI**. 2014. 22f. Dissertation (M.Sc in Agronomy, Plant Science) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Mossoró-RN, 2014.

Diseases, especially fungal, has caused severe damage in Brazilian production. Although the main form of disease control is chemical control, has conducted studies that evaluate alternative controls, which may not pose risks to the environment or human health and, as is the case of neem oil and eucalyptus. However, due to the lack of information on the use of these control certain pathogenic fungi, the aim of this study was to evaluate the efficiency of commercial neem oil (Azamax) and eucalyptus essential oil encapsulated nanoparticle cashew gum in control *in vitro* *Fusarium pallidroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizoctonia solani*. This chapter is divided into eight experiments, and all conducted in a completely randomized and performed in the laboratory of Phytopathology UFERSA design. The results showed that the neem oil mainly inhibited, *F. pallidroseum* and *C. gloeosporioides*, inhibition of 17,64% and 15,18% , respectively, when used at 150 µL aliquot of this oil. Since the essential oil of eucalyptus of encapsulated nanoparticle cashew gum showed inhibitory effect when used at a 25% concentration of oil, especially on *F. pallidroseum* and *C. gloeosporioides*, providing respectively 12,28% and 10,00% inhibition growth of these pathogens. Therefore, it follows that the neem oil and eucalyptus essential oil encapsulated nanoparticle cashew gum showed promising results in the control of these pathogenic fungi in vitro.

Keywords: Neem oil. Eucalyptus essential oil. Inhibition of Growth. Pathogen.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil apesar de estar entre os três maiores produtores mundiais de frutas, com uma produção, no ano de 2012, superior aos 42 milhões de toneladas (SEAB, 2012), apresenta um montante exportado ainda pequeno, apenas de 1,9% do total produzido nacionalmente, e isto está associado à ocorrência de perdas na produção, as quais podem chegar a atingir índices de 30 a 40% da quantidade produzida (SILVEIRA et al., 2005).

Essas perdas estão associadas a causas fisiológicas intrínsecas às plantas, manuseio, transporte e acondicionamento inadequados dos frutos, e, especialmente, em virtude da ação de microorganismos fitopatogênicos tanto na pré quanto na pós-colheita, dos quais os fungos são os que ocasionam perdas mais severas na produção, (MARI e GUIZZARDI, 1998; SILVEIRA et al., 2005).

Dentre as principais doenças fúngicas que acometem as frutíferas destacam-se as podridões pós-colheita, como as ocasionadas por *Fusarium pallidoroseum* (Cooke) Sacc., *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. & Sacc. e *Colletotrichum musae* (Berk. & Curtis) Arx, além dos danos ocasionados por patógenos radiculares, como é o caso da *Rhizoctonia solani* Kuhn (SILVEIRA et al., 2005; MICHEREFF et al., 2005).

Diante das perdas severas que as podridões fúngicas podem acarretar na produção frutícola brasileira, torna-se necessária a adoção de estratégias de controle, sendo o uso de fungicidas o método mais utilizado. No entanto, nos últimos anos, tem-se intensificado a busca por novas técnicas de controle de doenças que venham a reduzir o emprego de fungicidas, especialmente em virtude dos riscos que o mau uso destes compostos pode acarretar ao meio ambiente, a saúde de trabalhadores e aos consumidores (ROEL et al., 2000; CARNEIRO et al., 2007; CARVALHO et al., 2008).

Nessa perspectiva, estudos vem demonstrando a eficiência de derivados de espécies vegetais, como óleos essenciais de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) e de eucalipto (*Eucalyptus staigeriana* (F. Muell.)), no controle *in vitro* e *in vivo* de patógenos, principalmente *Colletotrichum* spp., aumentando assim as perspectivas

de inserção desses produtos no manejo de doenças em sistemas agrícolas (CARNEIRO et al., 2007; CARNELOSSI et al., 2009; DIAS-ARIEIRA et al., 2010; PAZ et al., 2011; MACHADO et al., 2013). Apesar das contribuições e avanços sobre o uso de derivados vegetais no controle de doenças de plantas, ainda são escassas pesquisas relacionadas à ação de óleos vegetais sobre determinados fitopatógenos, tornando necessário o desenvolvimento de pesquisas nessa temática.

Portanto, diante da escassez de informações a cerca do emprego de óleos essenciais, especialmente óleo de nim e de eucalipto, sobre o crescimento de determinados fungos fitopatogênicos, este trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência do óleo comercial de nim (Azamax) e do óleo essencial de eucalipto encapsulado com nanopartícula de goma de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) no controle *in vitro* de *F. pallidoroseum*, *C. musae*, *C. gloeosporioides* e *R. solani*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LOCAL DA REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS E AQUISIÇÕES DOS MATERIAIS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fitopatologia II da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Departamento de Ciências Vegetais, Campus Mossoró-RN. O óleo essencial de eucalipto encapsulado com nanopartícula de goma de cajueiro foi sintetizado e fornecido pelo Laboratório de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará (UFC). O óleo comercial de nim (Azamax) foi fornecido pelo Laboratório de Entomologia e Parasitologia II da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA).

Os isolados de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum musae* e *Fusarium pallidoroseum* foram oriundos da Coleção Maria Menezes da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), ao passo que o isolado de *Rhizoctonia solani* foi obtido mediante isolamento de raízes de meloeiro realizado no Laboratório de Fitopatologia II da UFERSA.

2.2. DESCRIÇÃO DOS EXPERIMENTOS

O capítulo III foi dividido em oito experimentos, sendo:

- Experimento I: Óleo comercial de nim (Azamax) no controle *in vitro* de *F. pallidoroseum*;
- Experimento II: Óleo comercial de nim (Azamax) no controle *in vitro* de *C. musae*;
- Experimento III: Óleo comercial de nim (Azamax) no controle *in vitro* de *C. gloeosporioides*;

- Experimento IV: Óleo comercial de nim (Azamax) no controle *in vitro* de *R. solani*;
- Experimento V: Óleo essencial de eucalipto encapsulado com nanopartícula de goma de cajueiro no controle *in vitro* de *F. pallidroseum*;
- Experimento VI: Óleo essencial de eucalipto encapsulado com nanopartícula de goma de cajueiro no controle *in vitro* de *C. musae*;
- Experimento VII: Óleo essencial de eucalipto encapsulado com nanopartícula de goma de cajueiro no controle *in vitro* de *C. gloeosporioides*;
- Experimento VIII: Óleo essencial de eucalipto encapsulado com nanopartícula de goma de cajueiro no controle *in vitro* de *R. solani*.

2.2.1 Experimentos que utilizaram o óleo comercial de nim (Azamax), no controle *in vitro* de *Fusarium pallidroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani*, respectivamente experimentos I, II, III e IV

Estes experimentos foram conduzidos em um delineamento inteiramente casualizado com oito tratamentos (0; 5; 10; 15; 25; 50; 100 e 150 µL) e quatro repetições. Os tratamentos foram determinados de acordo com a disponibilidade de material, e os experimentos realizados baseados na metodologia usada por Carnelossi et al. (2009).

Para verificar o efeito do óleo comercial de nim (Azamax) sobre o crescimento micelial de *F. pallidroseum* (Experimento I), *C. musae* (Experimento II), *C. gloeosporioides* (Experimento III) e *R. solani* (Experimento IV), alíquotas de 5; 10; 15; 25; 50, 100 e 150 µL do óleo foram colocadas, com o auxílio de uma pipeta automática, no centro de placas de Petri descartáveis com 8,5 centímetros de diâmetro contendo o meio de cultura B.D.A. e distribuídas sobre a superfície do meio com o auxílio da alça de Drigalsky.

Após duas horas, um disco de 0,5 cm de diâmetro do patógeno, referente a cada experimento, foi repicado para o centro das placas, as quais foram mantidas em B.O.D. a uma temperatura de 27°C durante o período necessário para que o crescimento colonial do patógeno, na testemunha, ocupasse toda a placa de Petri, o qual variou conforme o patógeno avaliado, *F. pallidroseum* (seis dias); *C. musae* (seis dias); *C. gloeosporioides* (cinco dias) e *R. solani* (três dias).

2.2.2 Experimentos que utilizaram o óleo essencial de eucalipto encapsulado com nanopartícula de goma de cajueiro no controle *in vitro* de *Fusarium pallidroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani*, respectivamente experimentos V, VI, VII e VIII

Estes experimentos foram conduzidos em um delineamento inteiramente casualizado com oito tratamentos (0; 1; 2; 5; 10; 15; 20 e 25%) e quatro repetições. Os tratamentos foram determinados com base na disponibilidade de material, e os experimentos foram desenvolvidos baseados na metodologia usada por Paz et al. (2011).

Para verificar o efeito do óleo essencial de eucalipto encapsulado com nanopartícula de goma de cajueiro sobre o crescimento micelial de *F. pallidroseum* (Experimento V), *C. musae* (Experimento VI), *C. gloeosporioides* (Experimento VII) e *R. solani* (Experimento VIII), foi realizada inicialmente a diluição das diferentes concentrações desse óleo, referentes a cada tratamento, em um erlenmeyer contendo 250 mL do meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar).

Em seguida, foi realizada a autoclavagem desse material por um período de quinze minutos a uma temperatura de 121 °C, com exceção do primeiro tratamento (testemunha), que não continha o óleo essencial, sendo autoclavado apenas o meio de cultura. Posteriormente, o material foi vertido em placas de Petri descartáveis com 8,5 centímetros de diâmetro – no centro das quais foi repicado um disco de 0,5 cm do patógeno, referente a cada experimento – as quais foram mantidas em B.O.D. a uma temperatura de 27°C durante período necessário para que o

crescimento colonial do patógeno, no tratamento testemunha, ocupasse toda a placa de Petri, o qual variou conforme o patógeno analisado, *F. pallidroseum* (sete dias); *C. musae* (seis dias); *C. gloeosporioides* (cinco dias) e *R. solani* (três dias).

2.3 AVALIAÇÕES DOS TRATAMENTOS E ANÁLISE DOS DADOS

A avaliação da eficiência dos óleos de nim e de eucalipto no controle *in vitro* de *F. pallidroseum*, *C. musae*, *C. gloeosporioides* e *R. solani* foi realizada diariamente por meio da medição, com o auxílio de um paquímetro, do diâmetro longitudinal e transversal do crescimento micelial do patógeno.

Após a obtenção do diâmetro colonial do patógeno, foi realizado o cálculo do Crescimento Radial (CR) do fungo utilizando a fórmula proposta por Fortí (1997), em que:

$$CR = \frac{DM - 0,5}{2}$$

Onde:

DM: Média dos diâmetros longitudinal e transversal do crescimento colonial do patógeno;

0,5: Diâmetro do disco do isolado do patógeno que foi colocado sobre as placas de Petri.

Em seguida, foi realizado o cálculo do crescimento radial diário, calculado pela seguinte fórmula:

$$CRd = \frac{CR}{n}$$

Onde:

CR: Crescimento Radial do fungo calculado utilizando a fórmula proposta por Fortí (1997);

n: Número de dias necessários para que o crescimento colonial do patógeno ocupasse toda a placa de Petri.

Além disso, foi calculado o percentual de inibição do crescimento micelial (PIC) conforme a fórmula utilizada por Hillen et al. (2012), em que:

$$\text{PIC} = \frac{(\text{Crescimento da testemunha} - \text{Crescimento do tratamento}) * 100}{\text{Crescimento da testemunha}}$$

Os dados obtidos dos crescimentos radiais diários dos patógenos foram submetidos à análise de variância, por meio do programa estatístico “R” (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011), e quando os valores de “F” foram significativos, foi realizado o ajuste dos dados a modelos matemáticos por meio da análise de regressão, utilizando o programa Table Curve.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 EFEITO DO ÓLEO COMERCIAL DE NIM (AZAMAX) NO CONTROLE *IN VITRO* DE *Fusarium pallidroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* E *Rhizoctonia solani*

Houve efeito significativo (Apêndices I A; I B; I C; e I D) do óleo comercial de nim (Azamax) sobre crescimento micelial dos patógenos analisados. Para todos os patógenos, pode-se observar que a alíquota de 150 µL proporcionou maior percentual de inibição (Tabela 1 e Figura 1), principalmente sobre *F. pallidroseum* e *C. gloeosporioides*, com 17,64 e 15,18%, respectivamente. No caso de *F. pallidroseum* e *C. musae*, pode-se observar que as alíquotas de 5 e 10 µL não diferiram da testemunha, não apresentando efeito sobre o crescimento micelial dos patógenos.

Tabela 1 - Crescimento radial diário (médias) e percentual de inibição do crescimento micelial de *Fusarium pallidroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani* expostos a diferentes alíquotas do óleo comercial de Nim (Azamax) durante seis, seis, cinco e três dias, respectivamente.

Alíquotas (µL)	<i>Fusarium pallidroseum</i>		<i>Colletotrichum musae</i>		<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>		<i>Rhizoctonia solani</i>	
	CRd ¹ (cm)	PIC ² (%)	CRd ¹ (cm)	PIC ² (%)	CRd ¹ (cm)	PIC ² (%)	CRd ¹ (cm)	PIC ² (%)
0	0,68	-	0,68	-	0,79	-	1,33	-
5	0,68	0	0,68	0	0,78	1,26	1,33	0
10	0,68	0	0,68	0	0,78	1,26	1,31	1,50
15	0,67	1,47	0,67	1,47	0,78	1,26	1,31	1,50
25	0,66	2,94	0,66	2,94	0,78	1,26	1,31	1,50
50	0,66	2,94	0,66	2,94	0,77	2,53	1,30	2,25
100	0,66	2,94	0,65	4,41	0,69	12,65	1,30	2,25
150	0,56	17,64	0,64	5,88	0,67	15,18	1,21	9,02

¹Crescimento Radial Diário. ²Percentual de inibição do crescimento micelial.

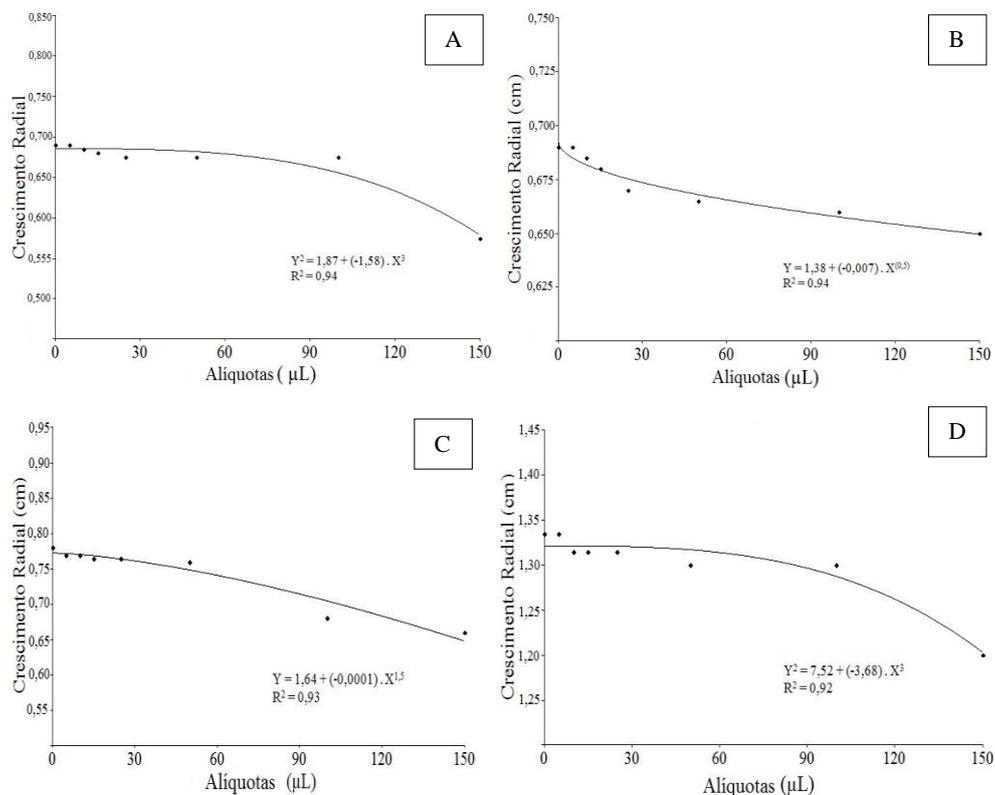


Figura 1 - Análise de regressão dos dados do crescimento radial diário de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani* expostos a diferentes alíquotas do óleo comercial de Nim (Azamax). A - *Fusarium pallidoroseum*; B - *Colletotrichum musae*; C - *Colletotrichum gloeosporioides*; D - *Rhizoctonia solani*.

Essa ação fungicida do óleo de nim (*A. indica*) está associada, de acordo com Suresh et al. (2004), à presença de princípios ativos, os terpenóides, cujos principais compostos foram avaliados, por esses autores, isoladamente sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* (Schlecht.), *Alternaria tenuis* (Nees) e *Drechslera oryzae* (Breda de Haan) Subram. e B. L. Jain, sendo constatado que a azadiractina não apresentou nenhuma atividade antifúngica, ao passo que a azadiradione, nimbin e salanim apresentaram significativa inibição do crescimento micelial dos patógenos.

Os mesmos autores, ao avaliarem a ação sinérgica dessas substâncias no controle dos referidos agentes fitopatogênicos, observaram que houve inibição total do crescimento de *D. oryzae* e significativa redução dos demais fungos analisados,

indicando que a ação fungicida do óleo de nim depende da concentração dos princípios ativos, bem como do tipo de patógeno envolvido, sendo necessária a avaliação da ação fungicida do óleo, em diferentes concentrações, de maneira isolada sobre cada patógeno.

Diversos autores também já evidenciaram a atividade antifúngica do óleo de nim, especialmente sobre espécies de *Colletotrichum* (CARNEIRO, 2008; DIAS-ARIEIRA et al., 2010; SILVA et al., 2011) e de patógenos foliares, como é o caso do oídio (*Erysiphe polygona* D. C.) em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e oídio (*Oidium lycopersici* Cooke e Mass.) em tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (CARNEIRO, 2003; CARNEIRO et al., 2007); entretanto, ainda são escassas as informações acerca do seu emprego contra determinados fungos fitopatogênicos, como espécies de *Fusarium* e *Rhizoctonia*.

Resultados divergentes dos observados aqui foram verificados por Silva et al. (2011), os quais, avaliando o efeito do óleo comercial de nim (Neem ISLA) em diferentes concentrações (0; 10; 50; 100; 200 µg/mL de ingrediente ativo Azadiractina) sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* em seringueira (*Hevea brasiliensis* (HBK) M. Arg.), verificaram que as concentrações de 100 e 200 µg/mL proporcionaram percentuais de inibição de 58% e 60%, respectivamente, após sete dias de incubação, percentuais superiores aos observados no presente trabalho.

Essa divergência pode estar associada às diferentes concentrações dos compostos ativos, como a azadiractina, presentes nesses óleos, já que a ação fungicida do óleo de nim depende principalmente da concentração de seus princípios ativos (SURESH et al., 2004).

Entretanto, estudos também mostram que o óleo de nim pode não apresentar efeito inibitório sobre o crescimento de fungos fitopatogênicos, como é o caso do realizado por Carneiro (2008), que, avaliando o óleo de nim em diferentes concentrações (0; 5; 1; 1,5%) no controle da antracnose *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Br. & Cav.) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), não observou efeito inibitório no crescimento do patógeno, independentemente da concentração utilizada.

Apesar de escassas informações sobre o emprego do óleo de nim no controle de espécies de *Fusarium* e de *Rhizoctonia*, óleos derivados de outras espécies vegetais vêm sendo empregados no controle desses fitopatógenos, como é o caso dos óleos essenciais de espécies do gênero *Lippia* no controle de *Fusarium pallidoroseum* e de *Rhizoctonia solani*, que tem mostrado resultados satisfatórios (SOUSA, 2011; SILVA et al., 2013).

Além disso, óleos de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L.) também vêm sendo empregados no controle de *Fusarium oxysporum* Schlecht., *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. e *Rhizoctonia solani* sobre os quais têm apresentado inibição total do crescimento micelial em virtude da hidrofobicidade desse óleo, o que garantiu interação com os lipídeos da parede, da membrana celular e da mitocôndria, alterando a permeabilidade e causando distúrbios nestas estruturas (COSTA et al., 2011).

Contudo, os resultados obtidos no presente trabalho são promissores, especialmente para o uso do óleo de nim no controle de *Fusarium pallidoroseum* e *Colletotrichum gloeosporioides*, sendo necessárias novas pesquisas, como o emprego do óleo de nim em condições de casa de vegetação e posteriormente em campo, visando à inserção do emprego desse óleo essencial no controle dos referidos fitopatógenos.

3.2 ÓLEO ESSENCIAL DE EUCALIPTO ENCAPSULADO COM NANOPARTÍCULA DE GOMA DE CAJUEIRO NO CONTROLE *IN VITRO* DE *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* E *Rhizoctonia solani*

Houve efeito significativo (Apêndices II A; II B; II C e II D) do óleo essencial de eucalipto encapsulado com nanopartícula de goma de cajueiro sobre o crescimento radial dos fitopatógenos analisados. A partir da concentração de 1%, já se obteve pequena redução no crescimento micelial dos patógenos envolvidos, exceto para *R. solani*, em que esta concentração não diferiu da testemunha.

Os maiores percentuais de redução do crescimento radial, para todos os fungos, foram obtidos quando expostos à concentração de 25% do óleo de eucalipto (Tabela 2 e Figura 2), principalmente sobre *F. pallidoroseum* e *C. gloeosporioides*, com 12,28% e 10,00% de inibição, respectivamente. Para *C. musae*, foi observado que as concentrações de 1; 2; 5; 10 e 15% apresentaram o menor percentual de inibição, não diferindo entre si.

Tabela 2 - Crescimento radial (médias) diário e percentual de inibição do crescimento micelial de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani* expostos a diferentes concentrações do óleo essencial de eucalipto encapsulado com nanopartícula de goma de cajueiro durante sete, seis, cinco e três dias, respectivamente.

Concentrações (%)	<i>Fusarium pallidoroseum</i>		<i>Colletotrichum musae</i>		<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>		<i>Rhizoctonia solani</i>	
	CRd ¹ (cm)	PI ² (%)	CRd ¹ (cm)	PI ² (%)	CRd ¹ (cm)	PI ² (%)	CRd ¹ (cm)	PI ² (%)
0	0,57	-	0,67	-	0,80	-	1,33	-
1	0,56	1,75	0,66	1,49	0,79	1,25	1,33	0
2	0,55	3,50	0,66	1,49	0,79	1,25	1,31	1,50
5	0,55	3,50	0,66	1,49	0,79	1,25	1,31	1,50
10	0,54	5,26	0,66	1,49	0,77	3,75	1,31	1,50
15	0,54	5,26	0,66	1,49	0,77	3,75	1,27	4,51
20	0,53	7,01	0,64	4,48	0,74	7,50	1,25	6,01
25	0,50	12,28	0,62	7,46	0,72	10,00	1,23	7,52

¹ Crescimento Radial Diário. ² Percentual de inibição do crescimento micelial.

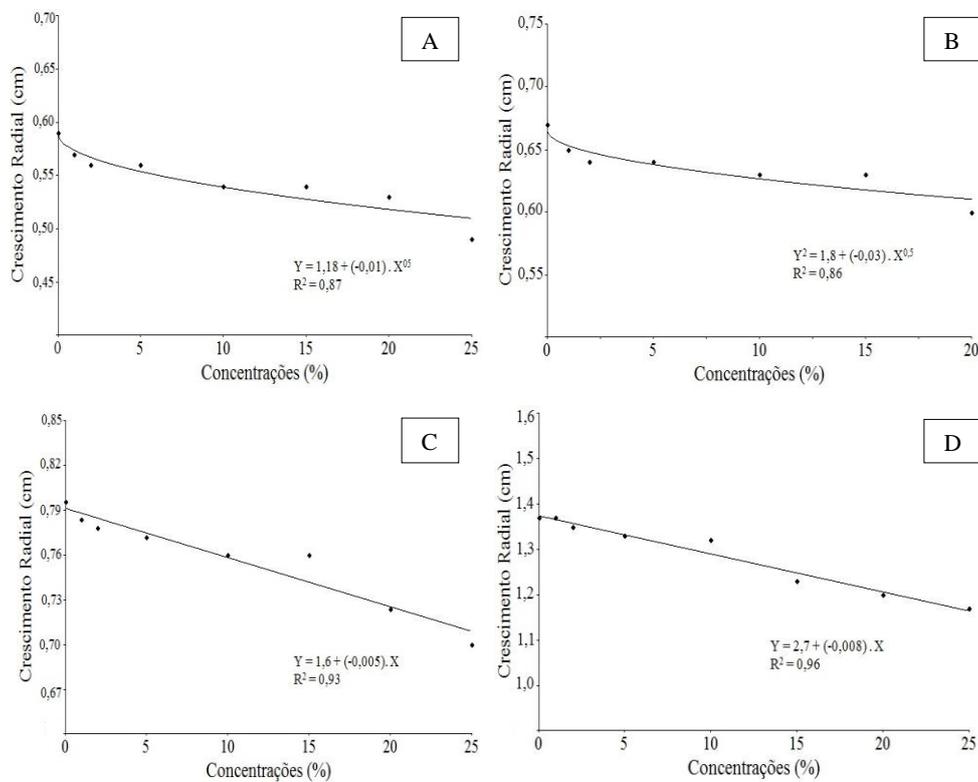


Figura 2 - Análise de regressão dos dados do crescimento radial diário de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani* expostos a diferentes concentrações do óleo essencial de eucalipto encapsulado com nanopartícula de goma de cajueiro.
A - *Fusarium pallidoroseum*; B - *Colletotrichum musae*; C - *C. gloeosporioides*; D - *Rhizoctonia solani*.

Segundo Schawan-Estrada et al. (2000), a atividade fungicida de derivados vegetais, tanto óleos quanto extratos, pode estar associada ao fato de que os compostos secundários produzidos por eles ocasionam ruptura na membrana plasmática, inibição da ação de enzimas fúngicas, acarretando ainda desorganização dos conteúdos celulares desses patógenos. A ação antifúngica de óleos de eucalipto está associada à presença de compostos bioativos, principalmente o limoneno e citronelol (LUDWIG et al., 2007; MESQUITA, 2012).

O efeito inibitório do uso do óleo essencial de eucalipto sobre o crescimento de fungos fitopatogênicos também vem sendo relatado na literatura.

Ludwig et al. (2007), avaliando a eficiência de óleo essencial de eucalipto puro e óleo de eucalipto diluído em etanol sobre o crescimento *in vitro* de fungos fitopatogênicos em tomateiro, observaram que no caso de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopesci* ((Sacc.) W. C. Snyder e H. N. Hans) apenas o óleo de eucalipto puro apresentou efeito sobre seu crescimento, com uma redução de 11,8% do tamanho de suas colônias. No caso de *Corynespora cassiicola* (Berk. e Curtis), foi observado que o tratamento que obteve efeito inibitório sobre o crescimento do patógeno foi o óleo de eucalipto diluído em etanol, cuja redução foi de 28,6% no crescimento colonial. Além disso, para o *Verticillium albo-atrum* (Reinke e Berthold) foi observado que este foi sensível a todos os tratamentos avaliados, com o óleo puro reduzindo em 33,3% o seu crescimento, ao passo que com o óleo diluído em etanol a redução foi de 27,1%.

A aplicação do óleo essencial de eucalipto no controle *in vitro* de fungos fitopatogênicos também foi realizado por Bonaldo et al. (2007), que avaliaram a atividade antifúngica do óleo essencial de eucalipto nas concentrações de 0; 20; 40; 100; 500 e 1000 µL no controle *in vitro* de fungos fitopatogênicos, observando que a partir da alíquota de 20 µL houve 100% de inibição do crescimento micelial de *Sclerotium rolfii* Sacc., *Phytophthora* sp., *Alternaria alternata* (Fr.:Fr) Keissl e *Colletotrichum sublineolum* (Henn.). No caso de *R. solani*, a redução foi de 90%, e na concentração de 40 µL este patógeno teve 100% de inibição do seu crescimento micelial, indicando potencial atividade antifúngica do óleo essencial de eucalipto no controle de determinados fungos fitopatogênicos.

Dias-arieira et al. (2010), avaliando a atividade do óleo de eucalipto (*Eucalyptus citriodora* Hooker M.) em diferentes concentrações (0; 0,25; 0,5; 1; 1,5%) no controle *in vitro* de *Colletotrichum acutatum* (Simmonds) em morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch), verificaram que as concentrações de 1 e 1,5% proporcionaram maiores reduções (91,1%) no crescimento micelial do patógeno, não diferindo significativamente entre si. Os resultados foram divergentes aos apresentados neste trabalho, já que neste, nas espécies de *Colletotrichum* avaliadas, o maior percentual de inibição apresentado foi de 10,00% (*C. gloeosporioides*). Essa divergência pode estar associada à espécie de

eucalipto utilizada para a obtenção do óleo já que no presente trabalho foi utilizada a espécie *Eucalyptus staigeriana* (F. Muell.), espécie diferente da utilizada por Dias-Arieira, o que pode acarretar em diferentes concentrações de princípios ativos capazes de inibir o crescimento micelial do patógeno.

Além disso, a própria técnica de encapsulamento pode ter sido a responsável pela redução da atividade antifúngica desse óleo, já que apesar de essa técnica ser utilizada para melhorar a eficácia de óleos essenciais (PEREIRA, 2012), a metodologia empregada para o encapsulamento pode reduzir sua eficiência, como foi o caso do observado no trabalho realizado por Richetti et al. (2012), os quais, avaliando a atividade antimicrobiana de óleo essencial de *Eucalyptus paniculata* (Grey Ironbark) encapsulado por método Sol-Gel a partir de tetraetilortossilicato e de organossilanos (Sílica sólida), observaram que o óleo essencial de eucalipto puro apresentou inibição satisfatória no desenvolvimento de *Bacillus cereus* (Frankland e Frankland), *Listeria monocytogenes* (Murray) e *Staphylococcus aureus* (Rosenbach); entretanto, quando aplicado via encapsulamento não se observou nenhum efeito inibitório, não havendo eficiência do material encapsulado, o que pode estar associado à disposição dos compostos funcionais do óleo essencial na cápsula.

Estes, portanto, são os primeiros resultados sobre o emprego do óleo essencial de eucalipto (*Eucalyptus staigeriana*) encapsulado com nanopartículas de goma de cajueiro sobre o crescimento micelial de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani*.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O óleo de nim e o óleo essencial de eucalipto encapsulado com nanopartícula de goma de cajueiro apresentaram efeito inibitório sobre o crescimento micelial de *Fusarium pallidroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani*, sendo necessárias novas pesquisas, como o emprego desses óleos essenciais em condições de casa de vegetação e posteriormente em campo, visando ao aprimoramento e à inserção dessas substâncias no controle dos referidos fitopatógenos.

REFERÊNCIAS

BONALDO, S. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S.; FIORI-TUTIDA, A. C. G. Contribuição ao estudo das atividades antifúngica e elicitora de fitoalexinas em sorgo e soja por eucalipto (*Eucalyptus citriodora*). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 4, p. 383-387, 2007.

CARNEIRO, S. T. P. G. Efeito de extratos de folhas e do óleo de nim sobre o oídio do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v. 29, n. 3, p. 262-265, 2003.

CARNEIRO, S. M. T. P. G.; PIGNONI, E.; VASCONCELLOS, M. E. C.; GOMES, J. C. Eficácia de extratos de nim para o controle do oídio do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 1, p. 34-39, 2007.

CARNEIRO, S. M. T. P. G. Efeito do nim (*Azadirachta indica*) sobre oídio e antracnose. **Informe da pesquisa**, Instituto Agronômico do Paraná, n. 155, p. 15, 2008.

CARNELOSSI, P. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; MESQUINI, R. M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 399-406, 2009.

CARVALHO, G. A.; SANTOS, N. M.; PEDROSO, E. C.; TORRES, A. F. Eficiência do óleo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) no controle de *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758) e *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) em couve – manteiga *Brassica oleracea* Linnaeus Var. *Acephala*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, n. 2, p. 181-186, 2008.

COSTA, A. R. T.; AMARAL, M. F. Z. J.; MARTINS, P. M.; PAULA, J. A. M.; FIUZA, T. S.; TRESVENZOL, L. M. F.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. e L. M. Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n. 2, p. 240-245, 2011.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; FERREIRA, L. R.; ARIEIRA, J. O.; MIGUEL, E. G.; DONEGA, M. A.; RIBEIRO, R. C. F. Atividade do óleo de *Eucalyptus citriodora* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum acutatum* em moragieiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 36, n. 3, p. 228-232, 2010.

FORTÍ, J. A. Aspectos patológicos, epidemiológicos y culturales de *Acremonium cucurbitacearum* Alfaro-García, W. Gams et J. García-Jiménez. **Tesis doctoral**, Universidad Politécnica de Valencia, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Departamento de Producción Vegetal, Valencia, p. 183, 1997.

HILLEN, T.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; MESQUINI, R. M.; CRUZ, M. E. S.; STANGARLIN, J. R.; NOZAKI, M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle de alguns fitopatógenos fúngicas *in vitro* e no tratamento de sementes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 3, p. 439-445, 2012.

LUDWIG, J.; MOURA, A. B.; ZANATTA, G. C. N. Z.; ZANANDREA, I.; SANTOS, J.; BOSENBECKER, V. K. Ação do óleo essencial de eucalipto sobre o crescimento “in vitro” de fungos patogênicos ao tomateiro. Resumos do II Congresso Brasileiro de Agroecologia, **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 1, p. 435-438, 2007.

MACHADO, R. M. A.; MUSSI-DIAS, V.; SOUZA, C. L. M.; SILVA, L. B.; FREIRE, M. G. M. Avaliação de óleos essenciais sobre o crescimento *in vitro* do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. **Perspectivas online: biologia & saúde**, Campos dos Goytacazes, v. 8, n. 3, p. 64-75, 2013.

MARI, M.; GUIZZARDI, M. The postharvest phase: emerging technologies for the control of fungal diseases. **Phytopositica**, Bet Dagan, v. 26, p. 59-66, 1998.

MESQUITA, M. A. Atividade do óleo essencial encapsulado de *Eucalyptus staigeriana* sobre nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 48p., 2012.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (Editores) Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais. UFRPE, Recife, **Imprensa Universitária**, 2005.

PAZ, D. S.; RODRIGUES, A. A. C.; DINIZ, N. B.; BRANDÃO, L. C. S.; CAMPOS NETO, J. R. M. Ação inibitória de extratos vegetais e óleo de nim sobre *Corynespora cassiicola*, agente causal da mancha-alvo do mamoeiro. Resumos do VII Congresso Brasileiro de Agroecologia, **Cadernos de Agroecologia**, v. 6 n. 2, 2011.

PEREIRA, V. A. Nanogéis de gomas regionais para o encapsulamento de óleos essenciais. **XXXI Encontro de Iniciação Científica e V Encontro de Pesquisa de Pós-graduação**, Resumo, Universidade Federal de Ceará, Fortaleza, 2012.

RICHETTI, A. E.; FERENZ, M.; ROSA, M. E. S.; SILVEIRA, S. M.; FRONZA, N. Avaliação da atividade antimicrobiana de óleo essencial de *Eucalyptus paniculata* encapsulado por método Sol-Gel. **II Mostra de Iniciação Científica**, Resumo, Instituto Federal Catarinense, Concórdia, 2012.

ROEL, A. R.; VENDRAMIM, J. D.; FRIGHETTO, R. T. S.; FRIGHETTO, N. Efeito do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) no desenvolvimento e sobrevivência da lagarta-do-cartucho. **Bragantia**, v. 59, n. 1, p. 53-58, 2000.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, v. 30, n. ½, p. 129-137, 2000.

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO (SEAB). Departamento de Economia Rural. Fruticultura – **Análise da Conjuntura Agropecuária**, 2012.

SILVA, R. A.; PEREIRA, R. E. A.; NAKANO, M. A. S. Inibição do crescimento micelial e germinação de *Colletotrichum gloeosporioides* na seringueira pelo óleo de neem (*Azadirachta indica*). **Nucleus**, v. 8, n. 1, p. 295-304, 2011.

SILVA, M. V.; CARVALHO, R. R. C.; RÊGO, T. J. S.; FONTES, M. G.; BLANK, A. F.; LARANJEIRA, D. Efeito de óleos essenciais de Lippia na inibição do crescimento de *Rhizoctonia solani*. **II CONAC – Congresso Nacional de Feijão-caupi**, Recife-PE, 2013.

SILVEIRA, N. S. S.; MICHEREFF, S. J.; SILVA, I. L. S. S.; OLIVEIRA, S. M. A. Doenças fúngicas pós-colheita em frutas tropicais: patogênese e controle (Revisão). **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 18, n. 4, p. 283-299, 2005.

SOUSA, A. E. D. Atividade antifúngica de óleos vegetais no controle de podridão-por-fusarium em melão e fusariose em abacaxi. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mestre em Agronomia, Fitotecnia, Mossoró-RN, 97f., 2010.

SURESH, G. V.; GOPALAKRISHNAN, G.; MASILAMANI, S. Neem for plant pathogenic fungal control: the outlook in the new Millennium. In.: KOUL, O.; WAHAB, S. (Ed.). **Neem**: Today and in the new Millennium, p. 183-207, 2004.

CAPÍTULO IV

EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE *IN VITRO* DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

RESUMO

ARAÚJO, Jacquelinne Alves de Medeiros. **EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE *IN VITRO* DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS**, 2014. 22f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Mossoró-RN, 2014.

A ocorrência de doenças, especialmente as ocasionadas por fungos, tem ocasionado perdas severas na produção brasileira de frutas. Visando obter novas técnicas de controle alternativo de doenças, estudos vem sendo realizados avaliando o emprego de extratos vegetais, como é o caso de extratos de nim e de extratos de algas marinhas, como a *Ascophyllum nodosum*. Entretanto, em decorrência da escassez de informações a cerca do emprego desses no controle de determinados fungos fitopatogênicos, este trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência de extrato aquoso de sementes de nim bem como de extrato comercial (Acadian) de *Ascophyllum nodosum* no controle *in vitro* de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani*. Este capítulo foi dividido em oito experimentos e todos conduzidos em um delineamento inteiramente casualizado e realizados no laboratório de Fitopatologia da UFERSA. Os resultados mostraram que o extrato aquoso de sementes de nim proporcionou inibição total sobre *C. musae* e *C. gloeosporioides* quando utilizada as concentrações de 15 g/100mL, enquanto que quando autoclavado, o percentual de inibição de crescimento sobre esses patógenos foi reduzido para 20,89% e 11,25%, respectivamente. O extrato de *A. nodosum*, quando utilizada a alíquota de 150 µL, apresentou ação inibitória principalmente sobre *R. solani*, proporcionando 42,25% de inibição do crescimento micelial desse patógeno. Dessa forma, esses extratos vegetais configuram-se como potenciais alternativas no manejo desses fitopatógenos.

Palavras-chave: Extrato de nim. Inibição de Crescimento. Controle alternativo. Fitopatógenos.

ABSTRACT

ARAÚJO, Jacqueline Alves de Medeiros. **EXTRACTS PLANT IN CONTROL IN VITRO PHYTOPATHOGENIC FUNGI**. 2014. 22f. Dissertation (M.Sc in Agronomy, Plant Science) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Mossoró-RN, 2014.

The occurrence of diseases, especially those caused by fungi, has caused severe losses in Brazilian fruit production. New techniques in order to obtain alternative disease control, several studies have been conducted evaluating the use of plant extracts, as is the case of neem extracts and seaweed extracts such as *Ascophyllum nodosum*. However, because of the scarcity of information about the employment of those in control of certain pathogenic fungi, this work aimed to evaluate the efficiency of aqueous extract of neem seed and commercial extract (Acadian) *Ascophyllum nodosum* in control *in vitro* *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizoctonia solani*. This chapter is divided into eight and all experiments conducted in a completely randomized and performed in the laboratory of Phytopathology UFERSA design. The results showed that the aqueous extract of neem seed gave complete inhibition of *C. musae* and *C. gloeosporioides* when used concentrations of 15 g/100mL, whereas when autoclaved, the percentage of growth inhibition on these pathogens was reduced to 20,89% and 11,25%, respectively. The extract of *A. nodosum*, when used at the rate of 150 µL, showed inhibitory action mainly on *R. solani*, providing 42,25% inhibition of mycelial growth of this pathogen. Thus, these plant extracts are characterized as potential alternatives to treat these pathogens.

Keywords: Extract of neem. Inhibition of Growth. Alternative control. Phytopathogens.

1 INTRODUÇÃO

Problemas de ordem fitossanitária, especialmente as doenças ocasionadas por fungos, têm ocasionado perdas severas na produção brasileira de frutas, destacando-se as podridões pós-colheita, como as ocasionadas por *Fusarium pallidoroseum* (Cooke) Sacc., *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. & Sacc. e *Colletotrichum musae* (Berk. & Curtis) Arx, além dos danos ocasionados por patógenos radiculares, como *Rhizoctonia solani* Kuhn (MICHEREFF et al., 2005; SILVEIRA et al., 2005; FISCHER et al., 2007). Assim, é fundamental a adoção de estratégias de controle para garantir a manutenção da sanidade vegetal, sendo o uso de fungicidas o principal método de controle.

Em virtude dos problemas que o mau uso de agrotóxicos na agricultura pode acarretar ao meio ambiente e à saúde humana, tem se intensificado a realização de pesquisas visando à inserção de novas alternativas de controle de pragas e doenças, como, por exemplo, utilização de extratos vegetais. De acordo com Copping e Duke (2009), há milhares de anos produtos naturais são utilizados pelo homem para benefício da humanidade.

A eficiência de extratos aquosos de derivados do nim (*Azadirachta indica* A. Juss), especialmente das sementes, tem sido avaliada no controle de fitopatógenos (ROVESTI et al., 1992; CARNEIRO et al., 2008; PAZ et al., 2011), sendo obtidos resultados promissores, o que vem auxiliando na redução da dependência por fungicidas sintéticos.

Carneiro et. al. (2007) avaliaram a eficiência de extratos de sementes de nim nas proporções de 15, 25 e 35 g/L no controle de oídio (*Erysiphe polygoni* D. C.) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) aplicados 48 horas antes e 24 horas após a inoculação, observando que o extrato de sementes reduziu os sintomas de oídio em aproximadamente 82% na aplicação preventiva e em 98% na pulverização realizada após a inoculação, não diferindo significativamente entre si em relação às proporções de extratos utilizados.

Além dos extratos de nim, extratos de algas também têm apresentado resultados satisfatórios no controle alternativo de doenças de plantas. Conforme

Kelecom (2001), extratos de algas apresentam compostos bioativos capazes de inibir o crescimento de fungos e bactérias, bem como estimular o crescimento e fortalecer as defesas das plantas contra o ataque de patógenos, de modo que, segundo Abreu et al. (2008), somente as algas marrons, como *Ascophyllum nodosum* L., tem se mostrado eficientes no controle de doenças de plantas.

Estudos que avaliem a eficiência de extratos aquosos de sementes de nim, bem como de extratos derivados de algas, especialmente de *A. nodosum*, sobre determinados fungos fitopatogênicos ainda são escassos, especialmente no Brasil. Assim, este trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência de extrato aquoso de sementes de nim e do extrato comercial de *A. nodosum* (Acadian) no controle *in vitro* de *F. pallidoroseum*, *C. musae*, *C. gloeosporioides* e *R. solani*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LOCAL DA REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS E AQUISIÇÃO DOS MATERIAIS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fitopatologia II da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Departamento de Ciências Vegetais, Campus Mossoró–RN.

O extrato aquoso de sementes de nim foi preparado com base na metodologia utilizada por Carneiro et al. (2007), sendo as sementes coletadas em plantas de nim do Campus central da UFERSA. O extrato comercial de *Ascophyllum nodosum* (Acadian) foi adquirido junto à empresa de comercialização de produtos fitossanitários.

Os isolados de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum musae* e *Fusarium pallidoroseum* foram oriundos da Coleção Maria Menezes da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), ao passo que o de *Rhizoctonia solani* foi isolado de raízes de meloeiro no Laboratório de Fitopatologia II da UFERSA.

2.2. DESCRIÇÃO DOS EXPERIMENTOS

O capítulo IV foi dividido em oito experimentos:

- Experimento I: Extrato aquoso de semente de nim (*A. indica*) no controle *in vitro* de *C. musae*;
- Experimento II: Extrato aquoso de semente de nim (*A. indica*) no controle no controle *in vitro* de *C. gloeosporioides*;
- Experimento III: Extrato aquoso, autoclavado, de semente de nim (*A. indica*) no controle no controle *in vitro* de *C. musae*;

- Experimento IV: Extrato aquoso, autoclavado, de semente de nim (*A. indica*) no controle no controle *in vitro* de *C. gloeosporioides*;
- Experimento V: Extrato comercial (Acadian) de *A. nodosum* no controle *in vitro* de *F. pallidoroseum*;
- Experimento VI: Extrato comercial (Acadian) de *A. nodosum* no controle *in vitro* de *C. musae*;
- Experimento VII: Extrato comercial (Acadian) de *A. nodosum* no controle *in vitro* de *C. gloeosporioides*;
- Experimento VIII: Extrato comercial (Acadian) de *A. nodosum* no controle *in vitro* de *R. solani*.

2.2.1 Experimentos que utilizaram o extrato aquoso de semente de nim (*Azadirachta indica*) no controle *in vitro* de *Colletotrichum musae* e *Colletotrichum gloeosporioides*, respectivamente experimentos I e II.

Estes experimentos foram conduzidos em um delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos (0; 1; 5; 10; 15 e 20 g/100mL) e dez repetições. A determinação dos tratamentos foi baseada na disponibilidade de material, e os experimentos desenvolvidos conforme a metodologia usada por Maqbool et al. (2010).

Para verificar o efeito do extrato aquoso de semente de nim sobre o crescimento micelial de *C. musae* (Experimento I) e *C. gloeosporioides* (Experimento II), uma alíquota de 100 µL de cada concentração do extrato, referente a cada tratamento, foi colocada, com o auxílio de uma pipeta automática, no centro de placas de Petri descartáveis com 8,5 centímetros de diâmetro contendo o meio de cultura B.D.A. e distribuídos sobre a superfície do meio com o auxílio da alça de Drigalsky.

Após duas horas, um disco de 0,5 cm de diâmetro do patógeno, referente a cada experimento, foi repicado para o centro das placas de Petri, as quais foram mantidas em B.O.D. a uma temperatura de 27°C durante o período necessário para

que o crescimento colonial do patógeno, no tratamento testemunha, ocupasse toda a placa, o qual variou conforme o patógeno: *C. musae* (cinco dias) e *C. gloeosporioides* (seis dias).

2.2.2 Experimentos que utilizaram o extrato aquoso, autoclavado, de semente de nim (*Azadirachta indica*) no controle *in vitro* de *Colletotrichum musae* e *Colletotrichum gloeosporioides*, respectivamente experimentos III e IV

Estes experimentos foram conduzidos em um delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos (0; 1; 5; 10; 15 e 20 g/100mL) e oito repetições. A determinação dos tratamentos foi baseada na disponibilidade de material, e os experimentos conduzidos conforme a metodologia usada por Maqbool et al. (2010).

Para verificar o efeito do extrato aquoso, autoclavado, de semente de nim sobre o crescimento micelial de *C. musae* (Experimento III) e *C. gloeosporioides* (Experimento IV), inicialmente foram adicionadas a um erlenmeyer contendo 250 mL do meio de cultura B.D.A. (batata-dextrose-ágar) as diferentes concentrações do extrato aquoso de semente de nim, referentes a cada tratamento.

Em seguida, foi realizada a autoclavagem desse material por um período de quinze minutos a uma temperatura de 121°C, com exceção do tratamento testemunha, que não continha o extrato, sendo autoclavado apenas o meio de cultura. Posteriormente, o material foi vertido em placas de Petri descartáveis com 8,5 centímetros de diâmetro, no centro das quais foi repicado um disco de 0,5 cm de diâmetro do patógeno, referente a cada experimento, as quais foram mantidas em B.O.D. a uma temperatura de 27°C durante o período necessário para que o crescimento colonial do patógeno, no tratamento testemunha, ocupasse toda a placa, o qual variou conforme o patógeno: *C. musae*, seis dias e *C. gloeosporioides*, cinco dias.

2.2.3 Experimentos que utilizaram o extrato comercial (Acadian) de *Ascophyllum nodosum*, no controle *in vitro* de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum musae* e *Rhizoctonia solani*, respectivamente experimentos V, VI, VII e VIII

Estes experimentos foram conduzidos em um delineamento inteiramente casualizado com oito tratamentos (0; 5; 10; 15; 25; 50; 100 e 150 µL) e quatro repetições. A determinação dos tratamentos foi baseada na disponibilidade de material, e os experimentos conduzidos conforme a metodologia usada por Carnelossi et al. (2009).

Para verificar o efeito do extrato comercial de *A. nodosum* sobre o crescimento micelial de *F. pallidoroseum* (Experimento V), *C. musae* (Experimento VI), *C. gloeosporioides* (Experimento VII) e *R. solani* (Experimento VIII), alíquotas de 5; 10; 15; 25; 50, 100 e 150 µL do extrato foram colocadas, com o auxílio de uma pipeta automática, no centro de placas de Petri com nove centímetros de diâmetro contendo o meio de cultura B.D.A. e distribuídas sobre a superfície do meio com o auxílio da alça de Drigalsky.

Após duas horas, um disco de 0,5 cm de diâmetro do patógeno, referente a cada experimento, foi repicado para o centro das placas de Petri, as quais foram mantidas em B.O.D. a uma temperatura de 27°C durante período necessário para que o crescimento colonial do patógeno, no tratamento testemunha, ocupasse toda a placa, o qual variou conforme o patógeno, no caso de *F. pallidoroseum*, por um período de oito dias; no caso *C. musae*, durante sete dias; *C. gloeosporioides*, por sete dias e no caso de *R. solani* por um período de três dias.

2.3 AVALIAÇÕES DOS TRATAMENTOS E ANÁLISE DOS DADOS

A avaliação da eficiência dos extratos de nim e de *Ascophyllum nodosum* no controle *in vitro* de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani* foi realizada diariamente por

meio da medição, com o auxílio de um paquímetro, do diâmetro longitudinal e transversal do crescimento micelial do patógeno.

Após a obtenção do diâmetro colonial do patógeno, foi realizado o cálculo do Crescimento Radial (CR) do fungo utilizando a fórmula proposta por Fortí (1997), em que:

$$CR = \frac{DM - 0,5}{2}$$

Onde:

DM: Média dos diâmetros longitudinal e transversal do crescimento colonial do patógeno;

0,5: Diâmetro do disco do isolado do patógeno colocado sobre as placas de Petri.

Em seguida, foi realizado o cálculo do crescimento radial diário, calculado pela seguinte fórmula:

$$CRd = \frac{CR}{n}$$

Onde:

CR: Crescimento Radial do fungo calculado utilizando a fórmula proposta por Fortí (1997);

n: Número necessário de dias para que o crescimento colonial do patógeno ocupasse toda a placa petri.

Além disso, foi calculado o percentual de inibição do crescimento micelial (PIC) conforme a fórmula utilizada por Hillen et al. (2012), em que:

$$PIC = \frac{(\text{Crescimento da testemunha} - \text{Crescimento do tratamento}) * 100}{\text{Crescimento da testemunha}}$$

Os dados obtidos dos crescimentos radiais diários dos patógenos foram submetidos à análise de variância, por meio do programa estatístico “R” (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011), e quando os valores de “F” foram significativos, foi realizado o ajuste dos dados a modelos matemáticos por meio da análise de regressão, utilizando o programa Table Curve.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 EXTRATO AQUOSO DE SEMENTE DE NIM, COM E SEM A REALIZAÇÃO DA AUTOCLAVAGEM, NO CONTROLE *IN VITRO* DE *Colletotrichum musae* E *Colletotrichum gloeosporioides*.

Houve efeito significativo (Apêndices I A e I B; e Apêndices II A e II B) do extrato aquoso de semente de nim no controle de *C. musae* e *C. gloeosporioides* independentemente da esterilização desse extrato por meio do uso da autoclave, de modo que quando não se realizou a esterilização do extrato de nim foi possível observar eficiência de inibição superior do extrato sobre o crescimento de ambos os fungos fitopatogênicos.

Avaliando a eficiência do extrato aquoso de semente de nim sem autoclavagem, pode-se observar que a partir da concentração de 1 g/100 mL (Tabela 1 e Figura 1) houve inibição no crescimento micelial dos patógenos, de modo que para o *C. musae* essa inibição foi de 56,41%, e para *C. gloeosporioides* foi de 62,50%. As concentrações de 15 e 20 g/100mL desse extrato proporcionaram inibição total do crescimento micelial de ambos os fitopatógenos, não apresentando diferença entre si.

Com relação à ação fungicida do extrato aquoso de sementes de nim autoclavado, observou-se que o crescimento micelial de ambos os patógenos foi significativamente inibido. O maior percentual inibitório, para ambos os fungos fitopatogênicos, foi observado na concentração de 20 g/100 mL do extrato autoclavado de nim (Tabela 1 e Figura 1), sendo de 23,88% e 20,00% para *C. musae* e *C. gloeosporioides*, respectivamente. A concentração de 1 g/100 mL não apresentou efeito inibitório sobre o crescimento micelial de *C. musae*, não diferindo significativamente da testemunha, ao passo que para o *C. gloeosporioides* essa concentração proporcionou um percentual de inibição de 2,50% sobre o crescimento micelial desse fitopatógeno.

Tabela 1 - Crescimento radial diário (médias) e percentual de inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum musae* e *Colletotrichum gloeosporioides* expostos a diferentes concentrações do extrato aquoso de semente de nim, com e sem a realização da autoclavagem.

Concentrações (g/100mL)	Extrato Aquoso de Semente de Nim				Extrato Aquoso Autoclavado de Semente de Nim			
	<i>Colletotrichum musae</i>		<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>		<i>Colletotrichum musae</i>		<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	
	CRd ¹ (cm)	PIC ² (%)	CRd ¹ (cm)	PIC ² (%)	CRd ¹ (cm)	PIC ² (%)	CRd ¹ (cm)	PIC ² (%)
0	0,78	-	0,64	-	0,67	-	0,80	-
1	0,34	56,41	0,24	62,50	0,67	0,00	0,78	2,50
5	0,13	83,33	0,20	68,75	0,61	8,95	0,77	3,75
10	0,09	88,46	0,09	85,94	0,56	16,42	0,71	11,25
15	0,00	100	0,00	100	0,53	20,89	0,71	11,25
20	0,00	100	0,00	100	0,51	23,88	0,64	20,00

¹ Crescimento Radial Diário. ² Percentual de inibição do crescimento micelial.

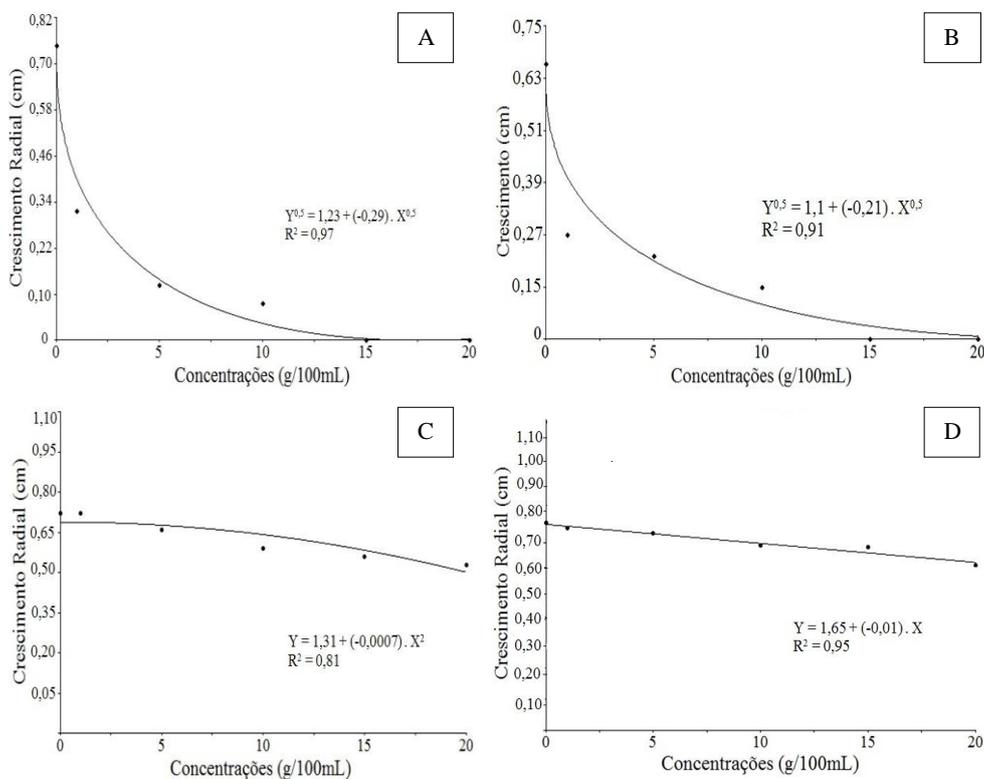


Figura 1 - Análise de regressão dos dados do crescimento radial diário de *Colletotrichum musae* e *Colletotrichum gloeosporioides* expostos a diferentes concentrações do extrato aquoso de semente de nim.

A – Extrato de nim (sem autoclavagem) sobre *Colletotrichum musae*. B – Extrato de nim (sem autoclavagem) sobre *Colletotrichum gloeosporioides*. C – Extrato de nim autoclavado sobre *Colletotrichum musae*. D – Extrato de nim autoclavado sobre *Colletotrichum gloeosporioides*.

A atividade antifúngica de derivados de nim está relacionada à presença de princípios ativos, os terpenóides, como azadiractina, azadiradione e salanim (PRITHIVIRAJ et al., 1998; SINDHAN et al., 1999; SURESH et al., 2004; DIAS-ARIEIRA et al., 2010).

Efeitos inibitórios da utilização de extratos vegetais sobre o crescimento micelial de espécies de *Colletotrichum* também foram observados por Carvalho (2010), o qual avaliou a eficiência de extratos vegetais - alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham.), nim e urtiga (*Urtica dióica* L.) - em diferentes concentrações (0; 5; 10 e 15%) no controle *in vitro* de *C. gloeosporioides*, observando que o extrato de alecrim pimenta apresentou maior efeito inibitório, impedindo totalmente o

crescimento do patógeno nas três concentrações utilizadas, ao passo que o extrato de nim apresentou maior efeito inibitório apenas nas concentrações de 5 e 10%; entretanto, não promoveu em nenhuma concentração utilizadas a inibição total sobre o crescimento do patógeno, resultado divergente do obtido no presente trabalho, de vez que neste observou-se que a concentração de 15% do extrato de nim proporcionou inibição total do crescimento micelial de *C. gloeosporioides*.

A redução do efeito inibitório quando utilizado o extrato aquoso autoclavado de sementes de nim sobre o crescimento de *C. musae* e *C. gloeosporioides*, aqui observado, pode estar associada às próprias condições de esterilização às quais esse extrato foi submetido na autoclave, como, por exemplo, a exposição a uma temperatura de 121°C, em virtude de que existem metabólitos secundários produzidos por plantas que podem se apresentarem termolábeis, que em condições de temperaturas elevadas podem sofrer alterações em suas propriedades ou até mesmos sofrer degradação das substâncias antifúngicas, diminuindo a atividade fungicida dessas substâncias (FRANZENER et al., 2003; LIMA et al., 2013).

A eficiência de derivados de nim foi previamente relatada por diversos pesquisadores no controle de outros fungos fitopatogênicos, principalmente patógenos foliares (ROVESTI et al., 1992; SINDHAN et al., 1999; PRITHIVIRAJ et al., 1998). Rovesti et al. (1992) verificaram que o extrato aquoso de sementes de nim apresentou efeito fungicida no controle do oídio (*Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht. et Fr.) Poll.) do pepino (*Cucumis sativus* L.) quando aplicada a concentração de 25 g/L.

Além disso, Rovesti et al. (1992) observaram ainda que a concentração de 20 g/L controlou o oídio (*S. fuliginea*) da abobrinha (*Cucurbita pepo* L.), *Blumeria graminis* (Speer) f. sp. *tritici* (Em. Marchal.) em trigo (*Triticum aestivum* L.) e *Blumeria graminis* (Speer) f. sp. *hordei* (Em. Marchal.) em cevada (*Hordeum vulgare* L.).

Prithiviraj et al. (1998), avaliando o controle do míldio da videira (*Plasmopara viticola* (Berk. e Curlis) Berl e de Toni) por meio de extrato aquoso de sementes de nim, observaram que a concentração de 25 g/L apresentou alta

eficiência no controle deste patógeno, em aplicações tanto preventivas quanto curativas, indicando potencial atividade de derivados de nim no controle de agentes fitopatogênicos, especialmente sobre determinadas espécies de fungos.

Suresh et al. (2004), avaliando a atividade isolada e sinérgica dos principais compostos presentes em derivados de nim (azadiractina, azadiradione, nimbim e salani) no controle de *Fusarium oxysporum* (Schlecht.), *Alternaria tenuis* (Nees) e *Drechslera oryzae* ((Breda de Haan) Subram. e B. L.), observaram que essas substâncias aplicadas isoladamente apresentaram ação fungicida contra todos os fitopatógenos avaliados, exceto a azadiractina, que não apresentou atividade fúngica.

Quando avaliaram a ação sinérgica dessas substâncias, os mesmos autores observaram aumento acentuado na ação dessas substâncias sobre o crescimento micelial dos fitopatógenos avaliados, observando inibição total do crescimento micelial de *D. oryzae*, indicando que a ação fungicida de derivados de nim, como os extratos, depende da concentração dos princípios ativos, bem como do tipo de patógeno envolvido, sendo necessária a avaliação da ação fungicida do extrato, em diferentes concentrações, de maneira isolada sobre cada patógeno.

3.2 EXTRATO COMERCIAL (ACADIAN) DE *Ascophyllum nodosum* NO CONTROLE *IN VITRO* DE *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* E *Rhizoctonia solani*

Foi observado efeito significativo (Apêndices III A; III B; III C; e III D) do extrato comercial (Acadian) de *A. nodosum* sobre o crescimento micelial dos patógenos avaliados. A alíquota de 150 µL de Acadian apresentou o maior percentual de inibição em todos os patógenos envolvidos (Tabela 2 e Figura 2). O *F. pallidoroseum* foi o menos afetado pela aplicação desse extrato, de vez que a alíquota de 150 µL foi a única que apresentou efeito sobre seu crescimento micelial, com uma inibição de 7,40%. Para *C. musae*, pode-se observar que as

alíquotas de 5 e 10 µL não diferiram da testemunha, não apresentando efeito inibitório sobre seu crescimento.

Para *C. gloeosporioides*, pode-se observar efeito inibitório em todas as alíquotas utilizadas, tendo a de 150 µL apresentado maior percentual de inibição, com 13,33%. Para *R. solani*, as alíquotas de 5 a 50 µL não apresentaram efeito inibitório sobre seu crescimento, sendo afetado apenas pelas alíquotas de 100 e 150 µL, tendo apresentado, não obstante, maior percentual de inibição, com 14,08 e 42,25%, respectivamente.

Tabela 2 - Crescimento radial diário (médias) e percentual de inibição do crescimento micelial de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani* expostos a diferentes alíquotas do extrato comercial (Acadian) de *Ascophyllum nodosum* durante oito, sete, sete e três dias, respectivamente.

Alíquotas (µL)	<i>Fusarium pallidoroseum</i>		<i>Colletotrichum musae</i>		<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>		<i>Rhizoctonia solani</i>	
	CRd ¹ (cm)	PI ² (%)	CRd ¹ (cm)	PI ² (%)	CRd ¹ (cm)	PI ² (%)	CRd ¹ (cm)	PI ² (%)
0	0,54	-	0,61	-	0,60	-	1,42	-
5	0,54	0,00	0,61	0,00	0,58	3,33	1,42	0,00
10	0,54	0,00	0,61	0,00	0,58	3,33	1,42	0,00
15	0,54	0,00	0,59	3,27	0,58	3,33	1,42	0,00
25	0,53	1,85	0,58	5,17	0,57	5,00	1,42	0,00
50	0,53	1,85	0,58	5,17	0,57	5,00	1,42	0,00
100	0,53	1,85	0,55	9,83	0,57	5,00	1,22	14,08
150	0,50	7,40	0,54	11,47	0,52	13,33	0,82	42,25

¹ Crescimento Radial Diário. ² Percentual de inibição do crescimento micelial.

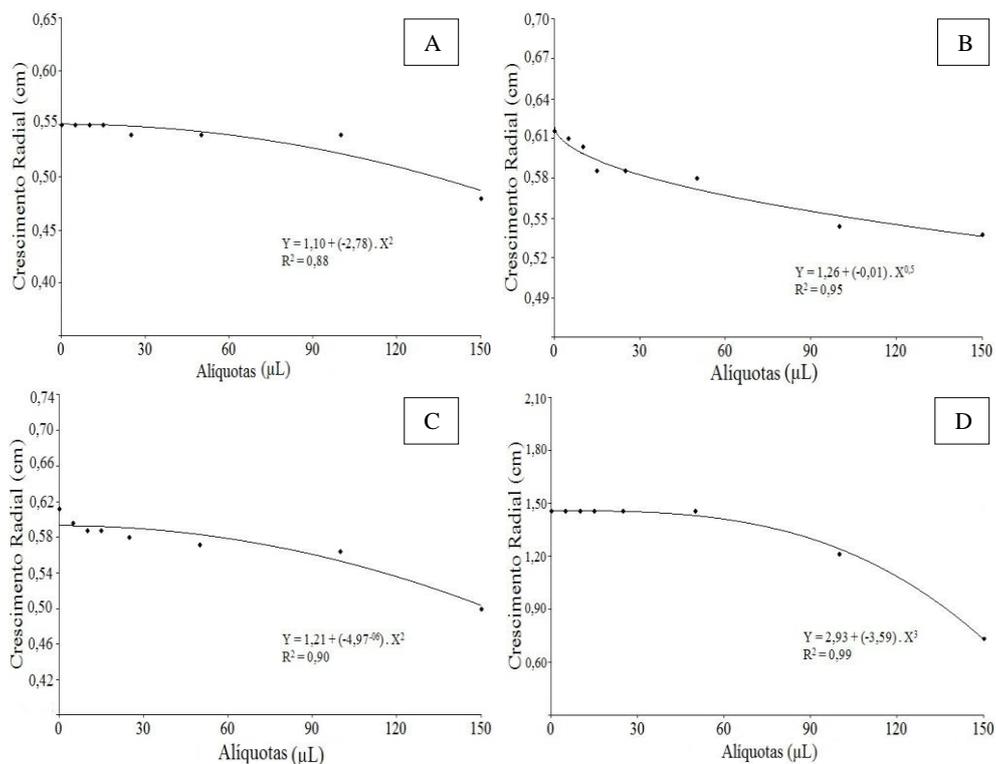


Figura 2 - Análise de regressão dos dados do crescimento radial diário de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani* expostos a diferentes alíquotas do extrato comercial (Acadian) de *Ascophyllum nodosum*. A – *Fusarium pallidoroseum*. B – *Colletotrichum musae*. C – *Colletotrichum gloeosporioides*. D – *Rhizoctonia solani*.

O efeito inibitório que o extrato de *Ascophyllum nodosum* apresentou sobre o crescimento micelial dos fitopatógenos analisados pode estar associado à presença de compostos bioativos, como ácido betainico gama-amonobutírico, ácido betainico delta-aminovalérico e glicinobetaina, identificados em estudos realizados por Jenkins et al. (1998 apud Martins, 2006), o que garante a ação fungicida desse extrato (Kelecom, 2001).

Pesquisas realizadas visando à avaliação da ação fungicida de extratos de algas marinhas ainda são escassas no Brasil. Segundo Abreu et al.(2008), somente as algas marrons, como é o caso da *A. nodosum*, têm se mostrado eficientes no controle de doenças de plantas, pois extratos derivados dessa alga estimulam as atividades das peroxidases e a síntese da fitoalexina capsidiol, fato observado em

plantas de pimentão e videira, acarretando em uma redução significativa no desenvolvimento do míldio da videira (*Plasmopara viticola* (Berk. e Curlis) Berl e de Toni) e da requeima do pimentão (*Phytophthora capsici* Leonian) quando tratados com a aplicação do referido extrato de alga (LIZZI et al., 1998 apud ABREU et al., 2008).

Não há informações na literatura sobre a ação fungicida do extrato de *Ascophyllum nodosum* sobre o crescimento de *Fusarium pallidoroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani* no Brasil, sendo estes os primeiros resultados obtidos sobre o tema, e com base nos resultados observados, especialmente sobre *R. solani*, aumentam as perspectivas de inserção do uso do referido extrato no controle de fungos fitopatogênicos.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato aquoso de sementes de nim, principalmente sem autoclavagem, apresentou alta eficiência no controle *in vitro* de *Colletotrichum musae* e *Colletotrichum gloeosporioides*, representando uma alternativa no manejo dos referidos fitopatógenos. O extrato de *Ascophyllum nodosum* apresentou resultados promissores no controle *in vitro* de *Fusarium pallidroseum*, *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e principalmente de *Rhizoctonia solani*, configurando-se em potencial alternativa no controle desses fitopatógenos.

REFERÊNCIAS

ABREU, G. F.; TALAMINI, V.; STADNIK, M. J. Bioprospecção de macroalgas marinhas e plantas aquáticas para o controle da antracnose do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, n. 1, p. 78-82, 2008.

CARNEIRO, S. M. T. P. G.; PIGNONI, E.; VASCONCELLOS, M. E. C.; GOMES, J. C. Eficácia de extratos de nim para o controle do oídio do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 1, p. 34-39, 2007.

CARNEIRO, S. M. T. P. G. Efeito do nim (*Azadirachta indica*) sobre oídio e antracnose. **Informe da pesquisa**, Instituto Agrônômico do Paraná, n. 155, p. 15, 2008.

CARNELOSSI, P. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; MESQUINI, R. M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 399-406, 2009.

CARVALHO, P. R. S. Extratos vegetais: Potencial elicitador de fitoalexinas e atividade antifúngica em antracnose do cajueiro. **Tese de Doutorado**, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal-SP, 51 f., 2010.

COPPING, L. G.; DUKE, S. O. Natural products that have been used commercially as crop protection agents. **Pest Management Science**, v. 63, p. 524-554, 2007.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; FERREIRA, L. R.; ARIEIRA, J. O.; MIGUEL, E. G.; DONEGA, M. A.; RIBEIRO, R. C. F. Atividade do óleo de *Eucalyptus citriodora* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum acutatum* em morangueiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 36, n. 3, p. 228-232, 2010.

FISCHER I. H; TOFFANO L.; LOURENÇO A. S.; AMORIM, L. Caracterização dos danos pós-colheita em citros procedentes de “packing house”. **Fitopatologia Brasileira**, p. 304-310, 2007.

FORTÍ, J. A. Aspectos patológicos, epidemiológicos y culturales de *Acremonium cucurbitacearum* Alfaro-García, W. Gams et J. García-Jiménez. **Tesis doctoral**, Universidad Politécnica de Valencia, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Departamento de Producción Vegetal, Valencia, p. 183, 1997.

FRAZENER, G.; STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R.; CRUZ, M. E. S. Atividade antifúngica e indução de resistência em trigo a *Bipolaris sorokiniana* por *Artemisia camphorata*. **Acta Scientiarum**, Agronomy, Maringá, v. 25, n. 2, p. 503-507, 2003.

HILLEN, T.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; MESQUINI, R. M.; CRUZ, M. E. S.; STANGARLIN, J. R.; NOZAKI, M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle de alguns fitopatógenos fúngicas *in vitro* e no tratamento de sementes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 3, p. 439-445, 2012.

JENKINS, T.; BLUNDEN, G.; HANKINS, S. D.; GABRIELSEN, B. O. Are the reductions in nematode attack on plants treated with seaweed extracts the result of stimulation of the formaldehyde cycle? **Acta Biologica Hungarica**, v. 49, p. 421-427, 1998.

KELECOM, A. Secondary metabolites from marine microorganisms. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, v. 74, n. 1, 2001.

LIMA, C. P.; CUNICO, M. M.; AUER, C. G.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D.; SILVA, C. B.; ANDRADE, C. A.; KERBER, V. A. Potencial alelopático e antifúngico do extrato das folhas de *Acacia longifolia* (Andr.) Willd. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 14, n. 4, p. 16-25, 2013.

LIZZI, Y.; COULOMB, C.; COULOMB, P. J.; COULOMB, P. O.; POLIAN, C. L'algue face au Mildiou: que avenir? **Phytoma**, Paris, v. 508, p. 29-30, 1998.

MAQBOOL, M.; ALI, A.; RAMACHANDRAN, S.; SMITH, D. R.; ALDERSON, P. G. Control of postharvest anthracnose of banana using a new edible composite coating. **Crop Protection**, v. 29, p. 1136-1141, 2010.

MARTINS, D. A. Uso de extratos à base de algas para controlar a antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) e a ferrugem (*Uromyces appendiculatus*) do feijoeiro. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Agronomia, **Monografia**, 2006.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (Editores) Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais. UFRPE, Recife, **Imprensa Universitária**, 2005.

PAZ, D. S.; RODRIGUES, A. A. C.; DINIZ, N. B.; BRANDÃO, L. C. S.; CAMPOS NETO, J. R. M. Ação inibitória de extratos vegetais e óleo de nim sobre *Corynespora cassiicola*, agente causal da mancha-alvo do mamoeiro. Resumos do VII Congresso Brasileiro de Agroecologia, **Cadernos de Agroecologia**, v. 6 n. 2, 2011.

PRITHIVIRAJ, B.; SINGH, U. P.; SINGH, K. P.; PLANK-SCHUMACHER, K. Field evaluation of ajoene, a constituent of garlic (*Allium sativum*) and neemazal, a product of neem (*Azadirachta indica*) for the control of powdery mildew (*Erysiphe pisi*) of pea (*Pisum sativum*). **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, Stuttgart, v. 105, n. 3, p. 274-278, 1998.

ROVESTI, L.; DI MARCO, S.; PANCALDI, D. Effect of neem kernel extract on some phytopathogenic fungi under greenhouse conditions. **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, Stuttgart, v. 99, n. 3, p. 293-296, 1992.

SILVEIRA, N. S. S.; MICHEREFF, S. J.; SILVA, I. L. S. S.; OLIVEIRA, S. M. A. Doenças fúngicas pós-colheita em frutas tropicais: patogênese e controle (Revisão). **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 18, n. 4, p. 283-299, 2005.

SINDHAN, G.S.; HOODA, I.; PARASHAR, R.D. Evaluation of plant extracts for the control of powdery mildew of pea. **Journal of Mycology and Plant Pathology**, New Delhi, v. 29, n. 2, p. 257-258, 1999.

SURESH, G. V.; GOPALAKRISHNAN, G.; MASILAMANI, S. Neem for plant pathogenic fungal control: the outlook in the new Millennium. In.: KOUL, O.; WAHAB, S. (Ed.). **Neem: Today and in the new Millennium**, p. 183-207, 2004.

APÊNDICES

CAPÍTULO II – NANOPARTÍCULAS NO CONTROLE *IN VITRO* DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

Apêndice I – Análise de variância do efeito das nanopartículas de prata FDAg-12/90 e FDAg-12/90-100 sobre o crescimento micelial de *Fusarium pallidoroseum*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	4	0.01324667	0.00331167	1.82 ^{n.s.}	0.1562
Resíduo	25	0.04545000	0.00181800		
Total	29	0.05869667			

^{n.s.} Efeito não significativo.

Apêndice II A – Análise de variância do efeito da nanopartícula de prata FDAgBH-100 sobre o crescimento micelial de *Fusarium pallidoroseum*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	7	0.01600700	0.00228671	9,02**	<0,0001
Resíduo	24	0.00608700	0.00025362		
Total	31	0.02209400			

** Efeito significativo a nível de 1% de probabilidade.

Apêndice II B – Análise de variância do efeito da nanopartícula de prata FDAgBH-100 sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum musae*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	7	0.02231372	0.00318767	3.35*	0.0123
Resíduo	24	0.02333625	0.00097234		
Total	31	0.04564997			

* Efeito significativo a nível 5% de probabilidade.

Apêndice II C – Análise de variância do efeito da nanopartícula de prata FDAgBH-100 sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	7	0.00322872	0.00046125	7,30**	<0,0001
Resíduo	24	0.00151575	0.00006316		
Total	31	0.00474447			

** Efeito significativo a nível de 1% de probabilidade.

Apêndice II D – Análise de variância do efeito da nanopartícula de prata FDAgBH-100 sobre o crescimento micelial de *Rhizoctonia solani*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	7	0.05075038	0.00725005	19,06**	<0,0001
Resíduo	24	0.00912750	0.00038031		
Total	31	0.05987788			

** Efeito significativo a nível de 1% de probabilidade.

Apêndice III A – Análise de variância do efeito da nanopartícula de goma de cajueiro sobre o crescimento micelial de *Fusarium pallidoroseum*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	6	0.00194336	0.00032389	6,75**	0,0004
Resíduo	21	0.00100750	0.00004798		
Total	27	0.00295086			

** Efeito significativo a nível de 1% de probabilidade.

Apêndice III B – Análise de variância do efeito da nanopartícula de goma de cajueiro sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum musae*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	6	0.00529921	0.00088320	8,82**	<0,0001
Resíduo	21	0.00210350	0.00010017		
Total	27	0.00740271			

** Efeito significativo a nível de 1% de probabilidade.

Apêndice III C – Análise de variância do efeito da nanopartícula de goma de cajueiro sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	6	0.01031571	0.00171929	5,44**	0,0016
Resíduo	21	0.00663325	0.00031587		
Total	27	0.01694896			

** Efeito significativo a nível de 1% de probabilidade.

Apêndice III D – Análise de variância do efeito da nanopartícula de goma de cajueiro sobre o crescimento micelial de *Rhizoctonia solani*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	6	0.00513136	0.00085523	3,69*	0,0116
Resíduo	21	0.00486675	0.00023175		
Total	27	0.00999811			

* Efeito significativo a nível de 5% de probabilidade.

CAPÍTULO III - ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE *IN VITRO* DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

Apêndice I A – Análise de variância do efeito do óleo comercial de nim (Azamax) sobre o crescimento micelial de *Fusarium pallidoroseum*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	7	0.04297722	0.00613960	104.60**	<0,0001
Resíduo	24	0.00140875	0.00005870		
Total	31	0.04438597			

** Efeito significativo a nível de 1% de probabilidade.

Apêndice I B – Análise de variância do efeito do óleo comercial de nim (Azamax) sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum musae*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	7	0.00690772	0.00098682	9.29**	<0,0001
Resíduo	24	0.00254875	0.00010620		
Total	31	0.00945647			

** Efeito significativo a nível de 1% de probabilidade.

Apêndice I C – Análise de variância do efeito do óleo comercial de nim (Azamax) sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	7	0.06357422	0.00908203	22.63**	<0,0001
Resíduo	24	0.00963125	0.00040130		
Total	31	0.07320547			

** Efeito significativo a nível de 1% de probabilidade.

Apêndice I D – Análise de variância do efeito do óleo comercial de nim (Azamax) sobre o crescimento micelial de *Rhizoctonia solani*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	7	0.04787422	0.00683917	17.30**	<0,0001
Resíduo	24	0.00948725	0.00039530		
Total	31	0.05736147			

** Efeito significativo a nível de 1% de probabilidade.

Apêndice II A – Análise de variância do efeito do óleo essencial de eucalipto encapsulado com nanopartícula de goma de cajueiro sobre o crescimento micelial de *Fusarium pallidoroseum*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	7	0.04265522	0.00609360	102.83**	<0.0001
Resíduo	24	0.00142225	0.00005926		
Total	31	0.04407747			

** Efeito significativo a nível de 1% de probabilidade.

Apêndice II B – Análise de variância do efeito do óleo essencial de eucalipto encapsulado com nanopartícula de goma de cajueiro sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum musae*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	7	0.00466800	0.00066686	3.78**	0.0067
Resíduo	24	0.00423800	0.00017658		
Total	31	0.00890600			

** Efeito significativo a nível de 1% de probabilidade.

Apêndice II C – Análise de variância do efeito do óleo essencial de eucalipto encapsulado com nanopartícula de goma de cajueiro sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	7	0.01954922	0.00279275	5.49**	0.0007
Resíduo	24	0.01220625	0.00050859		
Total	31	0.03175547			

** Efeito significativo a nível de 1% de probabilidade.

Apêndice II D – Análise de variância do efeito do óleo essencial de eucalipto encapsulado com nanopartícula de goma de cajueiro sobre o crescimento micelial de *Rhizoctonia solani*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	7	0.03477172	0.00496739	31.93**	<0,0001
Resíduo	24	0.00373325	0.00015555		
Total	31	0.03850497			

** Efeito significativo a nível de 1% de probabilidade.

CAPÍTULO IV - EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE *IN VITRO* DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

Apêndice I A – Análise de variância do efeito do extrato aquoso de sementes de nim (sem autoclavagem) sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum musae*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	5	4.46134000	0.89226800	15875.6**	<0,0001
Resíduo	54	0.00303500	0.00005620		
Total	59	4.46437500			

** Efeito significativo a nível de 1% de probabilidade.

Apêndice I B – Análise de variância do efeito do extrato aquoso de sementes de nim (sem autoclavagem) sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	5	2.88437453	0.57687491	11775.6**	<0,0001
Resíduo	54	0.00264540	0.00004899		
Total	59	2.88701993			

** Efeito significativo a nível de 1% de probabilidade.

Apêndice II C – Análise de variância do efeito do extrato aquoso de sementes de nim (autoclavado) sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum musae*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	5	0.18429269	0.03685854	93.27**	<0,0001
Resíduo	42	0.01659713	0.00039517		
Total	47	0.20088981			

** Efeito significativo a nível de 1% de probabilidade.

Apêndice II D – Análise de variância do efeito do extrato aquoso de sementes de nim (autoclavado) sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	5	0.13976042	0.02795208	23.97**	<0,0001
Resíduo	42	0.04898750	0.00116637		
Total	47	0.18874792			

** Efeito significativo a nível de 1% de probabilidade.

Apêndice III A – Análise de variância do efeito do extrato comercial de *Ascophyllum nodosum* (Acadian) sobre o crescimento micelial de *Fusarium pallidroseum*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	7	0.00365788	0.00052255	48.05**	<0,0001
Resíduo	24	0.00026100	0.00001087		
Total	31	0.00391888			

** Efeito significativo a nível de 1% de probabilidade.

Apêndice III B – Análise de variância do efeito do extrato comercial de *Ascophyllum nodosum* (Acadian) sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum musae*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	7	0.01617147	0.00231021	4.67**	0.0020
Resíduo	24	0.01186675	0.00049445		
Total	31	0.02803822			

** Efeito significativo a nível de 1% de probabilidade.

Apêndice III C – Análise de variância do efeito do extrato comercial de *Ascophyllum nodosum* (Acadian) sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	7	0.01372050	0.00196007	4.14**	0.0041
Resíduo	24	0.01134950	0.00047290		
Total	31	0.02507000			

** Efeito significativo a nível de 1% de probabilidade.

Apêndice III D – Análise de variância do efeito do extrato comercial de *Ascophyllum nodosum* (Acadian) sobre o crescimento micelial de *Rhizoctonia solani*.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma do Quadrado	Quadrado Médio	F	Pr>F
Tratamentos	7	1.29900122	0.18557160	24.15**	<0,0001
Resíduo	24	0.18440975	0.00768374		
Total	31	1.48341097			

** Efeito significativo a nível de 1% de probabilidade.