

JULIO CESAR DA SILVA

**USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, EXTRATOS VEGETAIS E INDUTORES DE
RESISTÊNCIA NO CONTROLE ALTERNATIVO DO MAL-DO-PANAMÁ DA
BANANEIRA**



UFAL

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
UNIDADE ACADÊMICA CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
MESTRADO EM AGRONOMIA
RIO LARGO, ESTADO DE ALAGOAS
JUNHO DE 2007**



CECA



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
UNIDADE ACADÊMICA CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
MESTRADO EM AGRONOMIA



JULIO CESAR DA SILVA

**USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, EXTRATOS VEGETAIS E INDUTORES DE
RESISTÊNCIA NO CONTROLE ALTERNATIVO DO MAL-DO-PANAMÁ DA
BANANEIRA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, da Unidade Acadêmica Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Edna Peixoto da Rocha Amorim

Co-orientação: Prof^ª. Dr^ª. Denise Maria Pinheiro

RIO LARGO, ESTADO DE ALAGOAS

JUNHO DE 2007

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

S586u Silva, Julio Cesar da.
Uso de óleos essenciais, extratos vegetais e indutores de resistência no controle alternativo do mal-do-Panamá da bananeira / Julio Cesar da Silva. – Rio Largo, 2007. 65 f. : il. tabs., graf.

Orientadora: Edna Peixoto da Rocha.

Co-Orientadora: Denise Maria Pinheiro.

Dissertação (mestrado em Agronomia : Produção Vegetal) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2007.

Inclui bibliografia.

1. Banana – Doenças. 2. Fusariose. 3. Mal-do-Panamá. 4. Fitopatologia. I. Título.

CDU: 634.772/.773

RIO LARGO, ESTADO DE ALAGOAS

JUNHO DE 2007

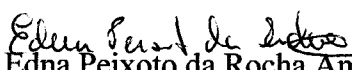
TERMO DE APROVAÇÃO

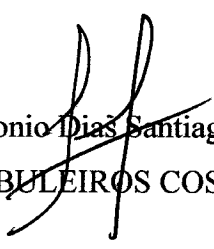
JULIO CESAR DA SILVA

(2005M21D013S-3)

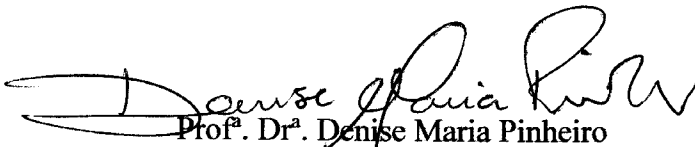
**USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, EXTRATOS VEGETAIS E INDUTORES DE
RESISTÊNCIA NO CONTROLE ALTERNATIVO DO MAL-DO-PANAMÁ DA
BANANEIRA**

Dissertação apresentada e avaliada pela Banca Examinadora em 28/06/2207, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia, do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Unidade Acadêmica Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas.


Profª. Drª. Edna Peixoto da Rocha Amorim
(CECA/UFAL)


Drº. Antonio Dias Santiago
(EMBRAPA TABULEIROS COSTEIROS)

Profª. Drª. Íris Lettiere da Silva
(CNPq/FAPEAL)


Profª. Drª. Denise Maria Pinheiro
(QUIMICA/UFAL)

RIO LARGO, ESTADO DE ALAGOAS, JUNHO DE 2007

A Deus por me conduzir sempre no caminho certo

AGRADEÇO

Ao meu pai José Walter de Amorim

A minha tia Maria Vanuza da Silva Pitanga

Pelo apoio, compreensão, carinho e paciência...

OFEREÇO

A minha avó Maria de Lourdes da Silva (in memoriam)

Pelo exemplo de amor, coragem e carinho.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A professora Edna Peixoto da Rocha Amorim, pela orientação. Sendo para mim como um exemplo de força e perseverança o qual deve ser seguido e que traz consigo um coração infinitivamente bondoso, que muito me ensinou.

A Professora Denise Maria Pinheiro, pela co-orientação, paciência e ensinamentos que ajudaram muito na melhoria deste trabalho.

A Dr^a. Arlinda Pereira Eloy, pelo apoio, incentivo, amizade e pelos conselhos que me fortaleceram a ter mais confiança e melhorar meu desempenho.

Aos professores do Laboratório de Fitopatologia, Dr^a. Iraíldes Pereira Assunção, Dr^o. Gaus Silvestre de Andrade Lima, Msc. Marcelo Menezes Cruz, Dr^o. Domingos Eduardo Guimarães Tavares de Andrade, Dr^a. Íris Lettiere da Silva, Dr^a. Marissônia de Araújo Noronha, pelos ensinamentos e amizade.

Aos professores do Curso de Pós-Graduação pelo compartilhamento do saber.

Aos funcionários do Laboratório de Fitopatologia Edvaldo Raimundo da Silva e Sebastião da Silva pelos serviços prestados, amizade e dedicação constante.

A todos os amigos da Pós-Graduação.

A Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal e Proteção de Plantas, em Especial a professora Edna Peixoto da Rocha Amorim, pela oportunidade de realizar este trabalho.

A Professora Maria de Fátima Muniz por ter me iniciado na pesquisa, amizade e carinho mesmo distante.

Aos meus colegas e amigos do laboratório de Fitopatologia, Ana Paula da Silva, Juliana Paiva Carnaúba, Marcio Felix Sobral, Genildo Cavalcante Ferreira Junior, Izael Oliveira Silva, Kirley Michelly Marques da Silva, Daniela Cavalcanti de Medeiros Furtado, Edlene Maria da Silva Moraes, Thalita Regina Gusmão de Mendonça, Elzir Correia Alves, Sarah Jacqueline Cavalcanti da Silva, Gisele Tenório de Almeida, Ana Karolina Teixeira Lima Gomes, Márcia Carine da Silva Barros, Ícaro Andrade e Silva, Carlos Jose Tavares de Oliveira, Angerson Góes Casado de Araújo, Jessé Marques da Silva Junior, Joyce Silva Lima, Jammily de Oliveira Vieira, Maryanne Medeiros Moura, Ana Cecília Pires de Azevedo Lopes, Liliane Dias do Nascimento, Willians de Oliveira Calixto, Edypo Jacob da Silva, Edilaine Alves de Melo, Leonardo de Fonseca Barbosa, Geórgia de Souza Peixinho, Mariote dos Santos Brito Netto, Cíntia Caroline Alves de

Almeida, Laís Peixoto da Rocha Soares, Dyana de Albuquerque Tenório e Luciana de Omena Gusmão pela amizade, companherismo e ajuda.

Em especial a minha amiga Kátia Cilene da Silva Félix pela amizade, carinho, conselhos, compreensão, incentivo e pela constante ajuda nos experimentos.

Ao secretário do Curso de Pós-Graduação em Agronomia Geraldo Lima, por sua paciência, amizade e dedicação.

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Alagoas (FAPEAL), pela concessão da bolsa, possibilitando assim o desenvolvimento desta pesquisa.

E a todos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho.

“Peça a Deus que abençoe seus planos e eles darão certo”.

Provérbios 16

RESUMO

Uso de óleos essenciais, extratos vegetais e indutores de resistência no controle alternativo do mal-do-Panamá da bananeira. A bananeira (*Musa* spp.), é uma planta explorada na maioria dos países tropicais. Seu fruto é consumido em praticamente todos os países do mundo “in natura” ou em forma de doces, compotas, enlatados, flocos, etc., devido ao seu valor energético, calórico e riqueza em vitaminas e sais minerais. A bananeira pode ser atacada por vários patógenos, destacando-se o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) que causa o mal-do-Panamá, uma das principais doenças da cultura. A busca por métodos alternativos de controle tem sido pesquisada e em especial o uso de óleos essenciais e extratos vegetais. Este trabalho foi desenvolvido em condições de laboratório e casa-de-vegetação do CECA/UFAL, com os objetivos de avaliar o efeito fungitóxico “in vitro”, “in vivo” e como indutores de resistência de óleos essenciais de *Eucalyptus* spp. (eucalipto variedade citriodora), *Cymbopogon winteranus* (citronela), *Caryophyllus aromaticus* L. (cravo-da-índia) e *Piper aduncum* L. (pimenta-de-macaco) e dos extratos vegetais aquosos de *Caryophyllus aromaticus* L. cravo-da-índia, *Cinnamomum zeylanicum* (canela), *Allium sativum* L. (alho), *Ocimum basilicum* (manjerição), *Zingiber officinale* Rosc. (gengibre) e *Ruta graveolens* (arruda) e dos produtos comerciais o ASM e Ecolife®. Os óleos foram adicionados ao meio de BDA nas concentrações de 1,25; 2,5; 3,75 e 5% e os extratos vegetais aquosos foram adicionados ao meio de BDA, nas concentrações de 5; 10; 15 e 20 % para os extratos vegetais aquosos e 0,25; 0,5; 0,75 e 1 % para Ecolife®. Para avaliação o índice de intensidade da doença (ID), plantas micropropagadas de bananeira da variedade maçã foram pulverizadas com os óleos essenciais (1,25%) e com os extratos de alho e canela (20%), extrato de cravo (15%) e Ecolife® (0,75%). Após oito dias, as plantas foram inoculadas com a suspensão de Foc (10^4 con.mL⁻¹), pelo método de imersão de raízes, por uma hora. O óleo de citronela, eucalipto, em todas as concentrações testadas, e os extratos de cravo (15 e 20%) e Ecolife® (0,75 e 1%) inibiram em 100% o crescimento micelial do fungo, constituindo assim os melhores tratamentos. Enquanto que, os óleos de cravo e pimenta-de-macaco e os extratos de alho e de canela inibiram parcialmente o crescimento micelial, em todas as concentrações testadas, sendo que o extrato de alho à medida que aumentava a concentração mostrava um incremento na PIC do fungo. Na avaliação “in vivo”, o óleo de citronela apresentou o melhor resultado (ID=25%), diferindo da testemunha, os óleos de cravo e de eucalipto apresentaram um ID= 95 e 75% , respectivamente. Os extratos de cravo e alho, e Ecolife® apresentaram um ID= 29, 25 e 8,33%. A inibição total ou parcial do crescimento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, avaliado “in vivo”, pelos óleos essenciais e extratos vegetais aquosos, nos mostra compostos de ação antifúngica. As atividades da enzima fenilalanina amônia liase (FAL) foi determinado em plantas submetidas aos tratamentos, coletadas às 24, 48, 72, 144 e 288 horas após a inoculação. Foi observada diferença significativa entre os indutores e a testemunha, destacando-se Ecolife®, extrato de manjerição, óleo de citronela, óleo e extrato de cravo, e extrato de arruda que proporcionaram os menores índices de doença nas mudas de banana maçã, respectivamente com 8,33; 12,5; 25,0; 29,17; 25,0; e 41,67 %. O indutor Ecolife® apresentou o melhor desempenho em relação aos outros indutores testados e a testemunha, proporcionando um controle de 83,7% da doença. Todos os tratamentos analisados apresentaram a presença da enzima, variando o nível de acordo com a data de extração e o extrato ou óleo utilizado como indutor de resistência. O extrato de cravo apresentou uma alta atividade enzimática na extração 24 e 48 horas após a inoculação do inoculo.

Palavras-chave: Banana - Doenças, Fusariose, Mal-do-Panamá, Fitopatologia

ABSTRACT

Use of essential oils, vegetables extracts and inductive of resistance in the alternative control of the Panama disease of the banana tree. The banana tree (*Musa* spp.), is a plant explored in the majority of the tropical countries. Its fruit is consumed in practically all the countries of the world "in nature" or in form of candies, compotes, tinned, flakes, etc., which had to its energy value, caloric and wealth in vitamins and leaves minerals. The banana tree can be attacked by some pathogen, being distinguished fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) that cause Panama disease, one of the main diseases of the culture. The search for alternative methods of control has been searched and in special the use of essential oils and vegetables extracts. This work was developed in laboratory conditions and greenhouse of the CECA/UFAL, with objectives to evaluate the fungitoxici effect "in vitro", "in vivo" and as inductive resistance of essential oils of *Eucalyptus* spp. (eucalypt citriodora variety), *Cymbopogon winteranus* (citronella), *Caryophyllus aromaticus* L. (india crave) and *Piper aduncum* L. (pepper-of-monkey) and of watery vegetables extracts of *Caryophyllus aromaticus* L. (india crave), *Cinnamomum zeylanicum* (cinnamon), *Allium sativum* L. (garlic), *Ocimum basilicum* (basil), *Zingiber officinale* Rosc. (ginger) and *Ruta graveolens* (arruda) and of the commercial products the ASM and Ecolife®. The oils had been added to the way of BDA in the 1,25 concentrations; 2,5; 3,75 and 5% and the watery vegetables extracts had been added to the way of BDA, in the concentrations of 5; 10; 15 and 20 % for watery vegetables extracts and 0,25; 0,5; 0,75 and 1 % for Ecolife®. For evaluation the index of intensity of the disease (ID), spread plants of banana tree of the variety apple had been sprayed with essential oils (1,25%) and with extracts of garlic and cinnamon (20%), extract of crave (15%) and Ecolife® (0,75%). After, the plants had been eight days inoculated with the suspension of Foc (104 con.mL-1), for the method of immersion of roots, for one hour. The oil of citronella, eucalypt, in all the tested concentrations, and the extracts of crave (15 and 20%) and Ecolife® (0,75 and 1%) had inhibited in 100% the mycelial growth of fungus, thus constituting the best treatments. While that, the oils of crave and pepper-of-monkey and the extracts of garlic and cinnamon had inhibited the mycelial growth partially, in all the tested concentrations, being that the extract of garlic to the measure that increased the concentration showed an increment in the PIC of fungus. In the "in vivo" evaluation, the oil of citronella presented the best one resulted (ID=25%), differing from the witness, the oils of crave and of eucalypt ID had presented = 95 and 75%, respectively. The extracts of crave and garlic, and Ecolife® ID had presented = 29, 25 and 8,33%. The total or partial inhibition of the mycelial growth of *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, evaluated "in vivo", for essential oils and watery vegetables extracts, in the sample composites of antifúngica action. The activities of the phenylalanine enzyme ammonia lyase (PAL) were determined in plants submitted to the treatments, collected to the 24, 48, 72, 144 and 288 hours after the inoculation. Significant difference between the inductors and the witness, being distinguished Ecolife®, extract of basil was observed, oil of citronella, oil and extract of crave, and extract of arruda that had provided to the lesser indices of disease in the apple banana changes, respectively with 8,33; 12,5; 25,0; 29,17; 25,0; e 41,67 %. The Ecolife® inductor presented the best performance in relation to the other tested inductors and the witness, providing a control of 83,7% of the disease. All the analyzed treatments had presented the presence of the enzyme in accordance with, varying the level the date of extraction and the extract or used oil as inductive of resistance. The extract of crave presented one high enzymatic activity in extraction 24 and 48 hours after the inoculation of inoculate it.

Keywords: Banana - Disease, Fusariose, Panama disease, Phytopathology

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	v
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
SUMÁRIO	x
CAPITULO I – Introdução Geral	2
Referências Bibliográficas	9
CAPITULO II - Controle alternativo do mal-do-Panamá {<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. cubense (E.F.Smith) Sn & Hansen} em mudas de bananeira	11
Resumo	11
Abstract	13
Introdução	15
Material e Métodos	16
Resultados e Discussão	21
Referências Bibliográficas	33
CAPITULO III - Avaliação de óleos essenciais, extratos vegetais aquosos, produto comercial Ecolife® e indutor comercial (ASM) no controle de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. cubense (E.F.Smith) Sn & Hansen agente causal do Mal-do-Panamá na Bananeira	39
Resumo	39
Abstract	40
Introdução	41
Material e Métodos	42
Resultados e Discussão	46
Referências Bibliográficas	51
CONSIDERAÇÕES FINAIS	55

Introdução Geral

- Cultura da Bananeira

Não se pode indicar com exatidão a origem da bananeira, pois ela se perde na mitologia grega e indiana. Atualmente admite-se que seja oriunda do Oriente, do sul da China ou da Indochina. Há referências da sua presença na Índia, na Malásia e nas Filipinas, onde tem sido cultivada há mais de 4.000 anos. A história registra a antiguidade da cultura. (MOREIRA, 1999).

A bananeira, planta típica das regiões tropicais úmidas, é um vegetal herbáceo completo, pois apresenta raiz, tronco, folhas, flores, frutos e sementes. O tronco é representado pelo rizoma e o conjunto de bainhas das folhas de pseudocaule. A sua multiplicação se processa, naturalmente no campo, por via vegetativa, pela emissão de novos rebentos. Entretanto, o seu plantio também pode ser feito por meio de sementes, processo este usado mais freqüentemente quando se pretende fazer a criação de novas variedades ou híbridos. (MOREIRA, 1999)

A bananeira, como todas as plantas, tem um ciclo de vida definido. Sua fase de gestação começa com a geração de um proto-rebento em outra bananeira, mas como nos animais, o início da contagem de sua vida somente se faz com seu aparecimento ao nível do solo. Com seu crescimento, há a formação de uma bananeira que irá produzir um cacho, cujas frutas se desenvolvem, amadurecem e caem, verificando-se em seguida o secamento de todas as suas folhas, quando se diz que a planta morreu. As bananeiras produtoras de frutos comestíveis foram classificadas, pela primeira vez, por Linneu, que as agrupou no gênero *Musa* com as espécies: *Musa cavendishii*, *Musa sapientum*, *Musa paradisiaca* e *Musa corniculata*. Essa classificação foi abandonada porque, dado seu empirismo, não seria possível incluir todos os cultivares hoje conhecidos, sem provocar grandes conflitos dentro da mesma espécie. (MOREIRA, 1999)

Atualmente, segundo Simmonds (1973), as bananeiras produtoras de frutos comestíveis são classificadas como plantas da: classe Monocotyledonea, ordem Scitaminea, família Musaceae, subfamília Musoideae, gênero *Musa*, subgênero (ou seção) *Eumusa* com as espécies comestíveis *Musa acuminata* Colla e *Musa balbisiana* Colla.

- Mal-do-Panamá

O mal-do-panamá, conhecido por fusariose da bananeira e também por FOC, é causado pelo fungo *Fusarium oxysporum* Schlechtend. Fr. f. sp. *cubense* (E.F.Sm.) W. C. Snyder & H. N. Hansen. Foi descrito pela primeira vez por Higgins, em 1904 em Honolulu. Ele apresenta quatro raças distintas, as quais parasitam especificamente determinados grupos de cultivares. Estas raças são identificadas em laboratório, porém em condições de campo o resultado é um só: morte do bananal.

Por volta de 1912, a fusariose da bananeira já se apresentava na Jamaica como o mal que iria destruir as plantações de ‘Gros Michel’ da América Central, constituindo doença de fundamental importância para a cultura mundial, o que mostrou sua substituição por aquelas do subgrupo cavendishii (Cordeiro & Matos, 2003). No Brasil, ela foi relatada em 1930 em Piracicaba, SP. Desde então, no Brasil a pesquisa bananícola tem suas vistas voltadas para o estudo dessa moléstia.

A raça 1 é mais encontrada no cultivar Gros Michel, a raça 2 quase que só no subgrupo Figo (Bluggoe) e a raça 4 tem sido encontrada nos cultivares do subgrupo Cavendish, em vários países. Por outro lado, a raça 3 só foi achada em cultivares selvagens e em plantas ornamentais. A constatação da raça 4 do patógeno tem aumentado a preocupação com esta doença. (Moreira, 1999)

O patógeno se instala nos vasos das bananeiras, porém sobrevive também no solo, pois ele é um fungo de solo, apresentando uma alta capacidade de sobrevivência na ausência do hospedeiro, isto decorre provavelmente porque formar uma estrutura de resistência chamado de clamidósporo, o qual permanecer nesse solo, em estado latente, por longos anos. (Cordeiro et al, 2004).

A infecção inicial pode se dar através de ferimentos nas raízes, nematóides contaminados, por insetos que tenham tido contato com plantas infectadas, pelas águas das chuvas ou de irrigação, enfim por inúmeras formas. Na bananeira, ele invade o sistema radicular, se expande no cilindro central do rizoma e daí segue para as bainhas das folhas. Em seguida as folhas apresentam uma clorose amarelada, semelhante a um sintoma de “fome” potássica. As folhas podem também se apresentar com várias faixas listradas de amarelo-canário, com largura de 2 a 4 cm, ligando a nervura principal com a do bordo. Quando isto ocorre, geralmente aparece um fendilhamento vertical no pseudocaule, com profundidade de 2, 3 ou 4 bainhas. Esse fendilhamento inicial é pequeno, mas logo se alonga por algumas dezenas de centímetros de comprimento com vários de largura; ele

aparece sempre a partir de 10 a 20 cm acima do colo do rizoma. Isto ocorre porque as bainhas externas param de crescer, enquanto que as de dentro continuam. (SILVA, 2004)

Nesta ocasião, fazendo-se um corte transversal no pseudocaule, próximo à sua base, observa-se a existência de manchas isoladas escuras e irregulares nos tecidos das bainhas, sinal evidente da presença do mal-do-panamá. Decorridas algumas semanas, estas manchas avançam irregularmente pelo pseudocaule acima, até atingirem a roseta foliar. Em estágio mais avançado da infecção, as manchas formadas nos tecidos semi-desidratados também se expandem lateralmente e forma um anel escuro, um pouco distante da bainha da folha mais nova. Essa região escurecida e seca, geralmente, apresenta forte odor de cana-de-açúcar fermentada. (MOREIRA, 1999).

- Controle do Mal-do-Panamá

Trata-se de uma doença difícil de ser controlada. Diversos métodos de controle são recomendados.

Blancard et al. (1996) a erradicação de plantas infectadas é uma opção de controle, quando este patógeno ocorre durante o cultivo. Braga (1976) recomenda que uma vez o bananal atacado, deve-se fazer a eliminação dos focos para evitar a disseminação do fungo causador da doença, através da erradicação total das plantas e das touceiras atacadas. Rosales et al., (2003) afirmam que a medida de controle mais eficiente para essa doença é o cultivo de variedades resistentes (Grupo Cavendish). Já para Bianchini et al. (1997), a principal medida de controle de *Fusarium*, consiste em minimizar a compactação do solo. Ainda segundo os mesmos autores, a severidade da doença pode ser amenizada evitando-se condições de alta umidade e temperatura, reinantes nas regiões tropicais. Deve-se evitar o plantio das mudas em terrenos com solos argilosos e mal drenados, com fertilidade desequilibrada (deficiência de fósforo e/ ou potássio ou excesso de nitrogênio) e ferimentos nas raízes.

Com o advento de fungicidas sistêmicos, como os benzimidazóis (Carbendazim, Tiofanato metílico, Tiabendazol), ativos contra fungos do gênero *Fusarium*, abriu-se uma perspectiva de obtenção de mudas saudáveis através de tratamentos químicos. Outras medidas recomendadas são as adubações equilibradas, eliminações das fontes de inoculo pela queima dos restos de plantas contaminadas, rotação de cultura para a diminuição do potencial de inoculo e erradicação por meio da inundação do terreno por seis meses (KIMATI & GALLI, 1980).

- Controle Alternativo de Doenças em Plantas

As doenças em plantas sempre foram motivos de grandes preocupações devido às perdas que ocorrem. Por essas razões, muitas entidades consideram que os fungicidas são insumos importantes e imprescindíveis para a produção mundial de alimentos (Marques et al., 2002).

No Brasil, a fusariose da bananeira tem dizimado áreas extensas do plantio da cultura, em todo o país, notadamente a cultivar maçã, de grande aceitação popular. Vale salientar, que as variedades resistentes não têm boa aceitação comercial e a prevenção da doença é dificultada pela ausência de conhecimentos, por parte dos agricultores sobre as formas de disseminação do patógeno, tornando-se imperativo a implementação de ações no sentido de proteger a bananicultura alagoana e nacional.

O Brasil é o terceiro maior consumidor de agrotóxicos do mundo e, também, o terceiro em mortalidade por câncer. As utilizações dos defensivos na agricultura apavoram tanto os agricultores quanto os consumidores, trazendo como conseqüências, a contaminação de água, animais, alimentos, solo e do próprio homem (Primavesi, 1997; Pontes, 2000). Nos últimos anos, o número de pesquisas sobre o controle de doenças através da utilização de produtos alternativos, em substituição aos convencionais, tem aumentado devido a essas conseqüências (Verzignassi et al. 2003).

Estudos recentes têm mostrado a importância dos químicos naturais como uma possível fonte de pesticidas alternativos biodegradáveis e não-tóxicos sistêmicos. Pesticidas de origem vegetal são de baixo custo, de fácil aquisição e uma alternativa para países em desenvolvimento, onde os fungicidas sintéticos são escassos e representam um alto custo aos produtores (Amadioha, 2000).

Alguns pesquisadores têm visto as plantas superiores como possíveis fontes de substâncias fungitóxicas, e que, em comparação aos fungicidas sintéticos, mostram-se praticamente inofensivas para o ambiente, podendo até superá-los em sua ação fungitóxica (Fawcett; Spencer, 1970).

O uso de biofungicidas, extratos vegetais e óleos essenciais, têm sido relatados como potentes fungicidas e inseticidas naturais, onde os resultados alcançados nessa linha de pesquisa têm-se mostrado promissores para uma utilização prática no controle de diversos fitopatógenos (Franco; Bettiol, 2000; Benato et al. 2002; Santos et al., 2004; Bastos; Albuquerque, 2004).

Atualmente, movimentos ecológicos a nível mundial têm cobrado uma maior importância, incentivando o uso de substâncias naturais para o controle de pragas e doenças de plantas, a tal ponto que muitos produtos de exportação devem adequar-se ao cultivo orgânico, sem ter recebido tratamento químico (Stauffer et al., 2000).

Levando em consideração que o Brasil, no que se refere às espécies vegetais, é um dos países mais ricos do mundo, deve-se buscar em nossas reservas naturais substâncias que atuem sobre pragas e doenças da nossa agricultura para minimizar os efeitos negativos do uso indiscriminado de substâncias químicas e aumentar a produção de alimentos de melhor qualidade, propiciando assim o desenvolvimento de uma agricultura alternativa e sustentável (Bettiol, 1991).

Atualmente uma das alternativas que está sendo pesquisada é a utilização de extratos vegetais, visando o aproveitamento de suas propriedades antibióticas (atividade fungicida), no controle de doenças de plantas, sendo este um dos enfoques da agricultura alternativa. (Stangarlin et al, 1999).

Sabendo-se da atividade fungicida de óleos essenciais e extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fungos fitopatogênicos e a importância do fungo *F. oxysporum* f. sp. *cubense* para a bananicultura mundial. Os objetivos deste trabalho foram de avaliar o efeito fungitóxico “in vitro”, “in vivo” e como indutores de resistência de óleos essenciais de eucalipto variedade citriodora, citronela, cravo e pimenta-de-macaco e dos extratos vegetais aquosos de cravo, canela, alho, manjerição, gengibre e arruda e dos produtos comerciais o ASM e Ecolife®.

Referencias Bibliográfica

- AMADIOHA, A. C. Controlling rice blast in vitro and in vivo with extracts of *Azadirachta indica*. **Crop Protection**, Oxford, v. 19, n. 5, p. 287 – 290, 2000.
- BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, P. S. B. Efeito de óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. . **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n.5, p. 555 - 557, 2004.
- BENATO, E. A., SIGRIS, J. M. M.; HANASHIRO, M. M. MAGALHÃES, M. J. M.; BINOTTI, C. S. Avaliação de fungicidas e produtos alternativos no controle de podridões pós-colheita em maracujá-amarelo. **Summa Phytopathologica**, v. 28, p. 299 - 304, 2002.
- BETTIOL, W. Controle Biológico de Doenças de Plantas. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, Documentos,15, 1991. 388p.
- BIANCHINI, A; MARINGONI, A. C. & CARNEIRO, S. M. T. P. G. **Doenças do feijoeiro**. In: KIMATI *et al* (org). Manual de Fitopatologia. São Paulo: Agronômica Ceres. V.2, p. 376-339. 1997.
- BLANCARD, D.; LECOQ, H. & PITRAT, M. **Enfermedades de las curcubitaceas**. Ed. Mundi - Prensa. INRA. p. 228. 1996.
- BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceara**, 3 ed. p.167, 1976.
- CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P. Doenças da bananeira. In: Freire, F. C., Cardoso, J. E. & Viana, F. M. P. (Eds). **Doenças de Fruteiras Tropicais de interesse agroindustrial**. Brasília, DF. EMBRAPA informação tecnológica. p.323-390. 2003.
- CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P. DE; FILHO, P. E. M. Doenças e métodos de controle. In: BORGES *et al*. (Eds.). O Cultivo da bananeira. 1. ed. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. p. 146-180.

FAWCETT, C. H.; SPENCER, D. M. Plant Chemotherapy with Natural Products. **Annual Review of Phytopathology**, v. 18, p.403- 17, 1970.

FRANCO, D. A.; BETTIOL, W. Controle de *Penicillium digitatum* em pós-colheita de citrus com produtos alternativos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, p. 602 – 606, 2000.

KIMATI, H. & GALLI, F. Doenças da Bananeira *Musa* spp. In: Galli, F. Coord. **Manual de Fitopatologia**. Doenças de planta cultivadas. Ceres, São Paulo. 2, p. 87-101, 1980

MARQUES, M. C. S.; CARDOSO, M. DAS G.; SOUZA, P. E.; GAVILANES, M. L.; SOUZA, J. A.; PEREIRA, N. E.; NEGRÃO, I. DE O. Efeito fungitóxico dos extratos de *Caryocar brasiliense* Camb. sobre os fungos *Botrytis cineria*, *Colletotrichum truncatum* e *Fusarium oxysporum*. **Ciênc. Agrotec**, Lavras, p. 1410 - 1419, 2002.

MOREIRA, S. R. **Banana - teoria e prática de cultivo**. São Paulo. Brasil. 2ª edição Fundação Cargill. 1999. [CD-ROM]

PONTES, J.J. DA. Um Basta aos Agrotóxicos. In: Congresso Brasileiro de Defensivos Alternativos, 1., 2000, Fortaleza. **Anais**. Fortaleza: Academia Cearense de Ciências, 2000. p. 9 -12.

PRIMAVESI, A. **Agroecologia**: Ecosfera, tecnosfera e agricultura. São Paulo: Nobel, 1997. 199p.

ROSALES, F.E.; RIVEROS, A. S. & BALCAZAR, S. **Fitoprotección y su importancia en el cultivo de las musáceas**. In : Anais, 5º Simpósio Brasileiro sobre Bananicultura, Paracatu, MG. p. 173-176. 2003.

SANTOS, P. M.; ALVES, E. S. S.; FERREIRA, W. S.; SANTOS, R. B.; VENTURA, J. A.; FERNANDES, P. M. B. Uso de formulações de óleos essenciais no controle da antracnose em frutos de mamão. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, supl., p. 125, 2004.

STAUFFER, B. A; ORREGO, F. A.; AQUINO, J. A. Selección de extractos vegetales con efecto fungicida y bactericida. **Revista Ciência y Tecnología**: Dirección de Investigaciones – UMA, v. 1, n. 2, 2000.

STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; NOZALI, M. H. Plantas medicinais – Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. v. 11, p. 16-21, 1999.

VERZIGNASSI, J. R.; KUROZAWA, C.; TOKESHI, H.; VILAS-BÔAS, R. L. Efeito dos microrganismos eficazes no controle da mancha púrpura do alho (*Alternaria porri*). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.29, n.4, p.301 - 308, 2003.

**Controle alternativo do mal-do-Panamá {*Fusarium oxysporum* f. sp.
cubense (E.F.Smith) Sn & Hansen} em mudas de bananeira**

Trabalho redigido segundo normas da Revista *Summa Phytopathologica* modificado.

RESUMO

O Mal-do-Panamá, causado pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) constitui uma das principais doenças da bananeira (*Musa* sp.), onde têm causado elevadas perdas na produção. A busca por métodos alternativos de controle tem sido pesquisada e em especial o uso de óleos essenciais e extratos vegetais. Este trabalho foi desenvolvido em condições de laboratório e casa-de-vegetação do CECA/UFAL, em Rio Largo/AL, com o objetivo de avaliar o efeito inibitório “in vitro” e “in vivo” de óleos essenciais de *Caryophyllus aromaticus* L. (cravo-da-índia), *Eucalyptus* spp. (eucalipto variedade critiodora), *Cymbopogon winteranus* (citronela) e *Piper aduncum* L. (Pimenta-de-macaco) e de extratos vegetais aquosos de *Caryophyllus aromaticus* L. (cravo-da-índia), *Cinnamomum zeylanicum* (canela), *Allium sativum* L. (alho) e um produto comercial a base de biomassa cítrica (Ecolife®) sobre o crescimento micelial de Foc. Os óleos foram adicionados ao meio de BDA nas concentrações de 1,25; 2,5; 3,75 e 5% e os extratos vegetais aquosos foram adicionados ao meio de BDA, nas concentrações de 5; 10; 15 e 20 % para os extratos vegetais aquosos e 1; 0,75; 0,5 e 0,25% para Ecolife®. Para avaliação o índice de intensidade da doença (ID), plantas micropropagadas de bananeira da variedade maçã foram pulverizadas com os óleos essenciais (1,25%) e com os extratos de alho e canela (20%), extrato de cravo (15%) e Ecolife® (0,75%). Após oito dias, as plantas foram inoculadas com a suspensão de Foc (10^4 con.mL⁻¹), pelo método de imersão de raízes, por uma hora. O óleo de citronela, eucalipto, em todas as concentrações testadas, e os extratos de cravo (15 e 20%) e Ecolife® (0,75 e 1%) inibiram em 100% o crescimento micelial do fungo, constituindo assim os melhores tratamentos. Enquanto que, os óleos de cravo e pimenta-de-macaco e os extratos de alho e de canela inibiram parcialmente o crescimento micelial, em todas as concentrações testadas, sendo que o extrato de alho à medida que

aumentava a concentração mostrava um incremento na PIC do fungo. Na avaliação “in vivo”, o óleo de citronela apresentou o melhor resultado (ID=25%), diferindo da testemunha, os óleos de cravo e de eucalipto apresentaram um ID= 95 e 75% , respectivamente. Os extratos de cravo e alho, e Ecolife® apresentaram um ID= 29, 25 e 8,33%. A inibição total ou parcial do crescimento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, avaliado “in vivo”, pelos óleos essenciais e extratos vegetais aquosos, nos mostra compostos de ação antifúngica.

Termos para indexação: Mal-do-Panamá, extratos vegetais aquosos, óleos essenciais.

ABSTRACT

The Panama disease, caused for fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), constitutes one of the main illnesses of the banana tree (*Musa* sp.), where it has caused raised losses in the production. The search for alternative methods of control has been searched and in special the use of essential oils and vegetables extracts. This work was developed in conditions of laboratory and greenhouse of the CECA/UFAL, in Rio Largo, AL, with the objective to evaluate the inhibitory effect "in vitro" and "in vivo" of essential oils of *Caryophyllus aromaticus* L. (india crave), of *Eucalyptus* spp. (eucalypt citriodora variety), *Cymbopogon winteranus* (citronela) and of *Piper aduncum* L. (pepper-of-monkey) and watery vegetables extracts of *Caryophyllus aromaticus* L. (india crave), *Cinnamomum zeylanicum* (cinnamon), *Allium sativum* L. (garlic) and a commercial product the base of citric biomass (Ecolife®) on the mycelial growth of Foc. The oils had been added to the way of BDA in the concentrations of 1, 25; 2, 5; 3, 75 and 5% and the vegetables extracts had been added to the way of BDA, in the concentrations of 5; 10; 15 and 20 % for watery vegetables extracts and 1; 0,75; 0, 5 and 0,25% for Ecolife®. For evaluation the indices of intensity of the disease (ID), spread plants of banana tree of the variety apple had been sprayed with essential oils (1,25%) and with extracts of garlic and cinnamon (20%), extract of crave (15%) and Ecolife® (0,75%). After, the plants had been eight days inoculated with the suspension of Foc (10^4 com.mL⁻¹), for the method of immersion of roots, for one hour. The oil of citronela, eucalipto citriodora, in all the tested concentrations, and the extracts of crave (15 and 20%) and Ecolife® (0, 75 and 1%) had inhibited in 100% the mycelial growth of fungi, thus constituting the best treatments. While that, the oils of crave and pepper and the extracts of garlic and cinnamon had inhibited the mycelial growth partially, in all the tested concentrations, being that the garlic extract the measure that

increased the concentration showed an increment in the PIC of fungus. In the evaluation "in vivo", the oil of citronela presented the best one resulted (ID=25%), differing from the witness, the oils of crave and of eucalypt ID had presented = 95 and 75%, respectively. The extracts of crave and garlic and the Ecolife® had presented ID = 29, 25 and 8, 33%. The total or partial inhibition of the mycelial growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, evaluated "in vivo", for essential oils and watery vegetables extracts, in the sample composites of antifungica action.

Index Terms: Panama disease, watery vegetables extracts essential oils.

INTRODUÇÃO

A banana é uma fruta consumida em praticamente todos os países do mundo, sendo considerada uma das de maior consumo (“in natura” ou em forma de doces, compotas, enlatados, flocos, etc.), devido ao seu valor energético, calórico e riqueza em vitaminas e sais minerais. É explorada na maioria dos países tropicais (9). Sendo o Brasil o terceiro maior produtor de banana, com seis milhões de toneladas e área colhida de 600 mil hectares, sendo superado apenas pela Índia e Equador (12).

A bananeira pode ser afetada por diversos patógenos, com reflexos negativos na produção. Nesse contexto, o Mal-do-Panamá, causado pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, constitui doença de fundamental importância para a bananicultura mundial (15). Na primeira metade do século 20, o Mal-do-Panamá dizimou os plantios de 'Gros Michel' (AAA) na América Central, até então a principal variedade de banana para a exportação, motivando sua substituição por aquelas do subgrupo Cavendish (AAA) (8). No entanto, a constatação da raça 4 do patógeno, que é capaz de afetar variedades desse subgrupo tem aumentado a preocupação com esta doença.

A grande dificuldade de controle da doença está no fato do *F. oxysporum* f. sp. *cubense* sobreviver, por muitos anos, na forma de estrutura de resistência (clamidósporo). As estratégias de controle da doença se restringem à troca da variedade suscetível por variedades resistentes e no plantio de mudas sadias. Vale salientar, que as variedades resistentes não têm boa aceitação comercial e a prevenção da doença é dificultada pela ausência de conhecimento, por parte dos agricultores, sobre as formas de disseminação do produtor de banana alagoano.

Atualmente uma das alternativas que esta sendo pesquisada é a utilização de óleos essenciais e extratos vegetais, visando o aproveitamento de suas propriedades antibióticas (atividade fungicida), no controle de doenças de plantas, sendo este um dos enfoques da agricultura alternativa. (21).

Sabendo-se da atividade fungicida de óleos essenciais e de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fungos patogênicos e a importância do *Fusarium*, para a bananicultura mundial, o objetivo deste trabalho foi de avaliar o efeito “in vitro” e “in vivo” de óleos essenciais, extratos vegetais aquosos de plantas medicinais e de um produto comercial (Ecolife®) sobre *F. oxysporum* f.sp. *cubense*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Fitopatologia e casa de vegetação da Unidade Acadêmica do Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) – Campus Delza Gitai, em Rio Largo/AL, durante o período de dezembro de 2006 a abril de 2007.

O isolado de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) utilizado no experimento foi obtido junto à micoteca do Laboratório de Fitopatologia, sendo o mesmo armazenado em Castellane a temperatura de 27°C.

- Obtenção dos óleos essenciais e extratos vegetais aquosos e Ecolife®

Os óleos de eucalipto variedade citriodora (*Eucalyptus* spp.), cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) e pimenta-de-macaco (*Piper aduncum* L.) foram adquiridos sob a forma comercial, o óleo de eucalipto produzido por Coala Essências Aromáticas

Ltda. (Fazenda São Benedito s/n, Cep 17300-00, Dois Córregos – SP. sac@coala.com.br), o óleo de cravo produzido por Terapeuta Amorim. O óleo de citronela (*Cymbopogon nardus*) foi obtido pela metodologia de arraste de vapor d'água, descrito por Stangarlin et al (21).

As plantas utilizadas para a avaliação do potencial de inibição e/ ou ação fungicida sobre o crescimento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* foram selecionadas a partir de espécies que são comercializadas na nossa região e adquiridas no Mercado Publico de Maceió, Tabela 1.

Tabela 1. Plantas medicinais selecionadas para a avaliação do potencial de inibição e/ ou ação fungicida sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

Nome científico	Nome comum	Partes utilizadas
<i>Allium sativum</i> L.	Alho	bulbilhos
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Canela	casca
<i>Caryophyllus aromaticus</i> L.	Cravo-da-índia	botões florais

Os extratos vegetais aquosos foram preparados, pesando-se 5g do material vegetal e triturando-os em 50mL de água destilada esterilizada em liquidificador por um tempo de 10 minutos, em seguida o material foi filtrados em gaze dupla, papel de filtro Whatman nº1 e membrana filtrante de porosidade de 0,45mm. Todos os extratos obtidos foram usados logo após a sua obtenção (19).

O produto comercial Ecolife®, a base de biomassa cítrica, foi fornecido por Quinabra S.A. (Química Natural Brasileira, São Jose dos Campos – SP, Brasil).

- Efeito de óleos essenciais, extratos vegetais e de Ecolife® sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

Os diferentes óleos essenciais e extratos vegetais aquosos foram adicionados ao meio BDA fundente (aproximadamente 45°C), na presença de inibidor seletivo (amoxilina®, inibidor de bactérias) a fim de se obter as concentrações de 1,25; 2,5; 3,75 e 5% para os óleos essenciais e de 5; 10; 15 e 20 %, para os extratos e as concentrações de 1; 0,75; 0,5 e 0,25% para o produto comercial Ecolife®, onde cada concentração representou um tratamento. Placas contendo somente meio BDA sem adição de óleos essenciais, extratos vegetais aquosos e Ecolife® serviram como testemunhas.

Discos de 5mm com crescimento fúngico de Foc, cultivados em meio BDA, durante 8 dias, foram repicados para o centro das placas de Petri, contendo a respectiva concentração dos óleos essenciais, extratos vegetais aquosos e Ecolife®, as quais foram incubadas em estufa de fotoperíodo (BOD) a temperatura de $28^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ sob regime de fotoperíodo de 12 h por um período de 7 dias.

A avaliação do crescimento micelial foi feita pela medição do crescimento radial da colônia em dois eixos ortogonais, sendo posteriormente calculada a média. A avaliação foi realizada quando a testemunha cobriu totalmente a placa de Petri.

As medidas foram calculadas pela percentagem de inibição do crescimento micelial (P.I.C.), segundo Edginton et al (11) que é expressa pela formula:

$$\text{P.I.C} = \frac{\text{cresc. test.} - \text{cresc. trat.}}{\text{cresc. test.}} \times 100, \text{ sendo}$$

cresc. test. = crescimento micelial da testemunha;

cresc. trat. = crescimento micelial do tratamento.

A avaliação do efeito fungicida dos óleos essenciais, extratos vegetais aquosos e Ecolife® foram verificados, retirando-se discos de micélio dos tratamentos onde não houve crescimento fúngico e transferindo-os para placas de Petri contendo meio BDA sem adição dos óleos essenciais e de extratos vegetais aquosos. A presença ou ausência de crescimento fúngico junto ao disco foi verificada após cinco dias.

Foi utilizado um delineamento em blocos casualizado, com oito tratamentos mais testemunha, em esquema fatorial (8x4), formado por quatro tipos de óleos essenciais, três tipos de extratos vegetais aquosos e Ecolife®, quatro concentrações e seis repetições. Os resultados obtidos de Percentagem de inibição do crescimento micelial (P.I.C) em cada tratamento foram submetidos a análise de regressão, tendo concentração de óleos essenciais e extratos e produto comercial Ecolife® como variável independente e P.I.C como variável dependente. A significância das regressões foi verificada pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. Esta análise estatística foi realizada com o auxílio do programa Microsoft® Excel 2000.

- Efeito de óleos essências, extratos vegetais e de Ecolife® sobre a incidência do mal-do-Panamá

Plantas micropropagadas de bananeira variedade Maçã (altamente suscetível) foram adquiridas na Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, Bahia. Foram transferidas para vasos de plástico pretos, contendo 2 kg de substrato esterilizado com brometo de metila.

As plantas foram pulverizadas com as concentrações dos óleos essenciais, extratos vegetais aquosos e Ecolife® que apresentaram melhor desempenho “in vitro” para os óleos essenciais (1,25%) extrato de alho e de Canela (20%), extrato de cravo (15%) e produto

comercial Ecolife® (0,75%), sendo aplicados 10 mL de cada solução por planta. Para cada tratamento foram utilizadas seis plantas micropropagadas de bananeira. Plantas aspergidas somente com água destilada esterilizada serviram como testemunha.

O fungo foi cultivado em meio BDA, incubado a temperatura aproximada de 27°C, por um período de oito dias. Procedendo-se após este período a obtenção da suspensão de conídios, cuja concentração foi determinada em câmara de Neubauer e ajustada para a concentração de 10^4 conídios. mL⁻¹. As plantas de bananeira foram inoculadas oito dias após a aspersão dos óleos essenciais e dos extratos vegetais aquosos, pelo método de imersão das raízes na suspensão do inóculo de Foc, durante uma hora.

A severidade da murcha de fusário foi avaliada aos 20 dias após a inoculação do patógeno, através dos sintomas externos exibidos na planta, atribuindo-se notas de 0 a 4, conforme McKinney (16), onde: 0 = planta sadia; 1 = Plantas com 25% de folhas com sintomas de murcha e/ou amarelecimento; 2 = Plantas com 50% de folhas com sintomas de murcha e/ou amarelecimento; 3 = Plantas com 75% de folhas com sintomas de murcha e/ou amarelecimento e 4 = Plantas totalmente murcha ou mortas. Os dados de severidade de doença foram transformados para índice de intensidade de doença (ID), segundo Menezes & Silva-Hanlin, (18). O Delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 8 tratamentos e 6 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade. Esta análise estatística foi realizada pelo programa ESTAT.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

- Avaliação “in vitro” dos extratos vegetais, óleos essenciais e Ecolife® sobre a percentagem de inibição do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Os óleos de citronela, eucalipto, cravo e pimenta-de-macaco, assim como, os extratos de alho, canela, cravo e o produto comercial Ecolife® inibiram o crescimento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*. Sendo que os óleos de citronela e eucalipto citriodora, em todas as concentrações testadas e o extrato de cravo (15 e 20%) e Ecolife® (0,5; 0,75 e 1%) inibiram o crescimento micelial “in vitro” em 100% diferindo significativamente ao nível de 5% de probabilidade em relação à testemunha, constituindo os melhores tratamentos. Enquanto que os óleos de cravo (3,75 e 5%) e pimenta-de-macaco (todas as concentrações) e os extratos de cravo (5 e 10%), alho e canela (todas as concentrações) e Ecolife® (0,25%) inibiram parcialmente o crescimento micelial do fungo em 20 e 40% (óleo de cravo), 80% (pimenta-de-macaco), 58 e 75% (extrato de cravo), 40, 50, 60 e 70% (extrato de alho), 10, 20, 25 e 30% (extrato de canela) e 97% (Ecolife®), respectivamente (Figura 1). Estes resultados podem indicar a existência de compostos secundários biologicamente ativos com a capacidade de exercer ação antifúngica sobre o patógeno.

O efeito de óleos essenciais sobre a inibição do crescimento micelial estão apresentados na Figura 1, onde se observa uma significativa regressão a 5% de probabilidade pelo teste F, para o óleo de cravo e de pimenta-de-macaco e para o extrato de alho. Observa-se que a porcentagem de inibição de crescimento micelial de *Foc*

aumentou significativamente ($P=0,05$) com o aumento da concentração dos óleos essenciais e extrato de alho.

Os óleos de eucalipto e citronela, nas concentrações testadas, inibiram em 100% o crescimento micelial de Foc.

Os extratos de cravo, canela e Ecolife®, nas concentrações testadas não apresentaram diferenças significativas na inibição do crescimento do patógeno. A concentração e tipo de óleo essencial e extratos vegetais influenciaram a inibição do crescimento micelial do fungo (Figura 2).

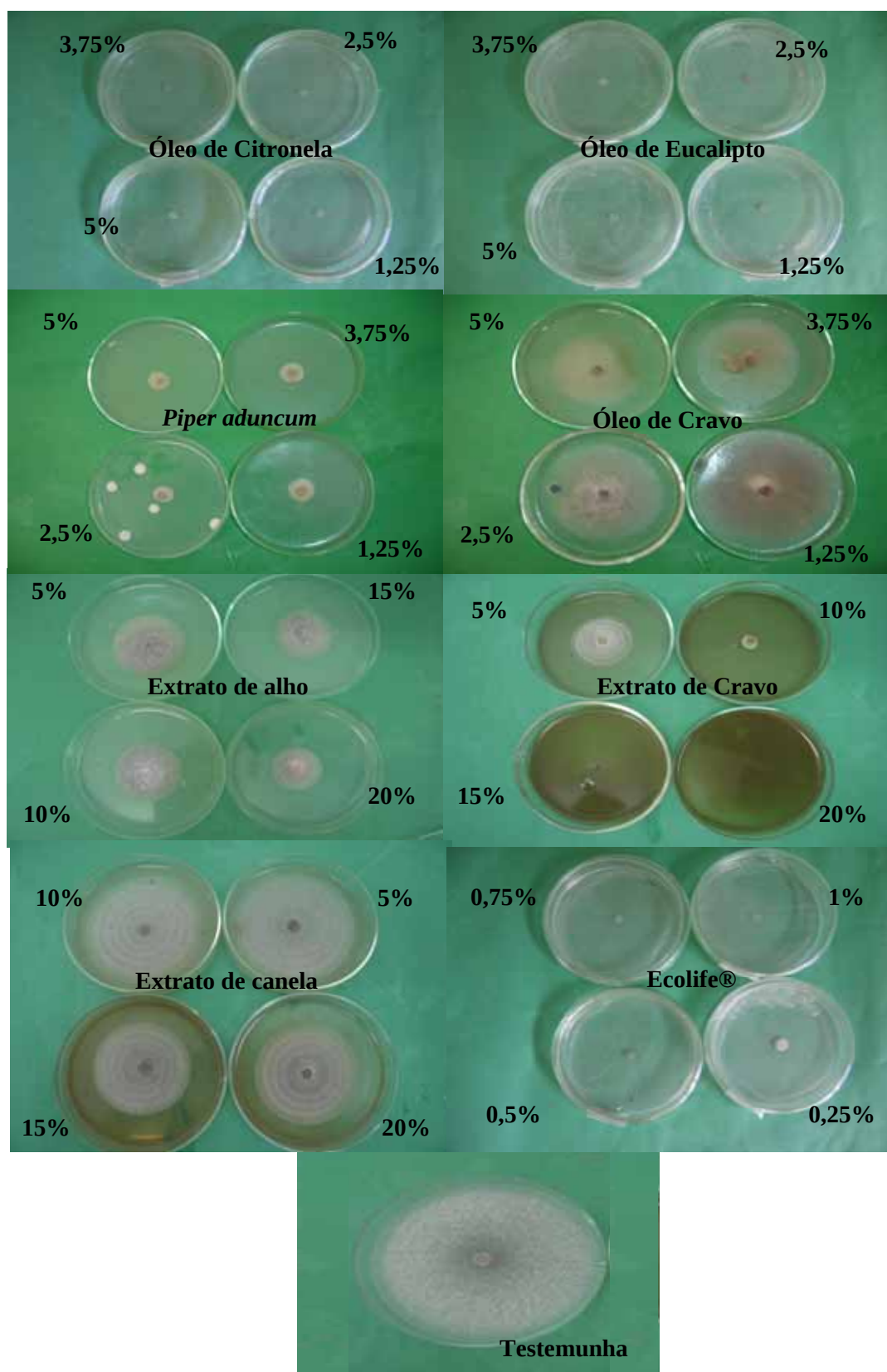


Figura 1. Inibição do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* “in vitro” na presença do óleo essenciais e extratos vegetais e produto comercial Ecolife®.

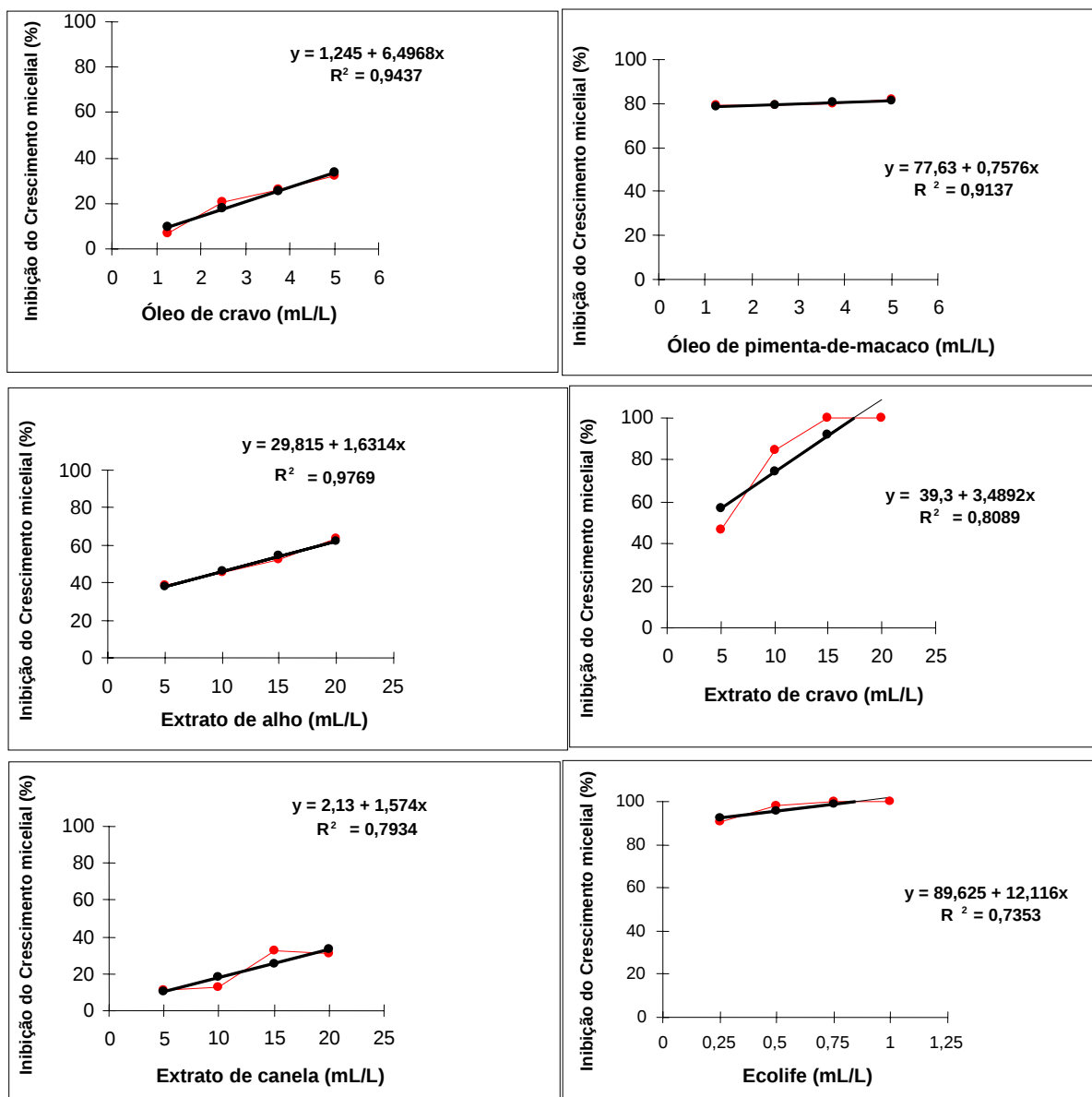


Figura 2 – Efeito de óleos essenciais, extratos vegetais e produto comercial Ecolife® sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (—●— Y, —●— Y previsto, — Linear (Y))

A toxicidade de óleos essenciais e extratos vegetais sobre patógenos têm sido constatados por diversos pesquisadores: Rios et al. (20) utilizaram óleo de citronela “in vitro” para avaliar a percentagem de crescimento micelial de *Colletotrichum acutatum* Simmonds, agente causal da flor preta do morangueiro, e observaram que nas

concentrações de 5; 10 e 15% houve redução parcial do crescimento micelial, enquanto na concentração de 20% ocorreu inibição total. Medice et al. (17) obtiveram resultado semelhante na inibição da germinação de esporos de *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd., agente causal da ferrugem da soja. Souza et al. (24), avaliando o efeito dos óleos essenciais de alho e da casca de canela contra os fungos do grupo *Aspergillus flavus*. Os referidos autores, avaliando o efeito dos óleos essenciais de alho, canela, cravo-da-índia e tomilho (*Thymus vulgaris* L.) contra *Rhizopus* sp., *Penicillium* spp., *Eurotium repens* e *A. niger*, verificaram que o desenvolvimento micelial foi inibido em 100% para todos os fungos testados, com variação apenas nas concentrações dos óleos. Bastos (4), estudando o efeito de Pimenta sobre *Crinipelis perniciosa* Stanel (Singer) e outros fungos fitopatogênicos, observaram o efeito fungicida sobre os patógenos, corroborando com os resultados encontrados neste trabalho.

Alves et al (1), avaliando a percentagem de germinação “in vitro” de *C. gloeosporioides*, *C. musae* e *Fusarium subglutinans* (Wollenweber & Reinking) Nelson, Toussoun & Marasas f. sp. *ananas* Ventura, Zambolim & Gilbertson na presença de óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* Stapf., *C. nardus* (L.) Rendle. e *C. citriodora* constataram que o crescimento micelial dos três fungos foi totalmente inibido pelos óleos essenciais não diluídos enquanto na concentração de 50% o óleo de *C. citratus*, inibiu mais de 95% do crescimento dos fungos e o óleo essencial de *C. nardus* inibiu completamente os fungos *C. gloeosporioides*, *C. musae* e 68% o crescimento de *F. subglutinans* f.sp. *ananas*, enquanto o óleo essencial de *C. citriodora* inibiu totalmente o *C. musae*, 64% de *C. gloeosporioides* e 75% de *F. subglutinans* f.sp. *ananas*.

Com relação aos extratos vegetais, Gasparim et al. (14) obtiveram resultados semelhante, trabalhando com extrato bruto de alho, observaram inibição significativa do crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* e de *Alternaria steviae* quando utilizaram

concentrações de 8 e 10% de extrato bruto. Chalfoun & Carvalho (10) também obtiveram redução no crescimento de *Fusarium moniliforme* em concentrações acima de 8% de extrato de bulbo de alho “in vitro”. Stauffer et al. (22), que obtiveram resultados semelhantes estudando o efeito de extratos de 98 espécies vegetais sobre o crescimento micelial de 9 fungos fitopatogênicos, citaram o alho, como o extrato de maior efeito sobre os patógenos, inibindo 7 dos 9 fungos testados, são eles: *Penicillium italicum* Welrmer; *Aspergillus flavus* Link; *Fusarium sp.*; *R. solani* Kühn; *Alternaria sp.*; *Colletotrichum sp.*; e *Pythium sp.* e em menor intensidade o extrato de cebola, com efeito inibidor sobre 4 dos 9 fungos estudados: *Fusarium sp.*; *Alternaria sp.*; *Colletotrichum sp.* e *Pythium sp.*. Ribeiro & Bedendo (19) avaliando o efeito de extrato de alho sobre o crescimento micelial e produção de esporos de *Colletotrichum gloeosporioides*, verificou uma redução de 67,65% no crescimento micelial em relação à testemunha e que a redução foi crescente proporcionalmente ao incremento da concentração do extrato, fato este que vem reforçar o resultado obtido neste trabalho.

A redução do crescimento micelial de patógenos, utilizando extratos cítricos ou produtos à base de biomassa cítrica também foi constatada por diversos pesquisadores ao estudarem vários patossistemas: Bernardo et al. (5) observaram que a partir da concentração de 1 % houve inibição de 100% do crescimento micelial de *R. solani*, *F. semitectum*, *Sclerotium rolfsii* Sacc. e *Bipolaris sorokinana* Sacc.; Barguil et al. (3), verificaram que Ecolife[®] nas concentrações de 0,25, 0,5 e 1% reduziu significativamente o crescimento micelial de *Phoma costarricensis* Echandi e que a inibição é diretamente proporcional à concentração dos produtos. Este resultado também foi observado em testes sobre o efeito de Ecolife[®] no crescimento micelial de *C. gloeosporioides* no cafeeiro (26) concordando com os resultados alcançados no presente trabalho.

Estudos mostram que a eficiência de um extrato pode ser influenciada pela temperatura com a qual este foi extraído, como relata Yin & Tsao (1999)¹⁸ *apud* Barguil et al. (3), os quais observaram que o efeito inibitório de extratos aquosos de *Allium* spp. diminuiu com o aumento da temperatura durante a extração, permitindo a decomposição de compostos antifúngicos. O que sugere que novos experimentos com esse extrato obtido sob temperaturas mais baixas podem gerar resultados promissores, devendo ser testados em trabalhos futuros.

- Avaliação do efeito fungitoxico

O teste de atividade fungicida usado mostrou viabilidade parcial do micélio de *F. oxysporum f. sp. cubense* para o óleo de eucalipto (todas as concentrações) e para Ecolife[®] (0,75%) e viabilidade total para o óleo de citronela (todas as concentrações) e extrato de cravo-da-índia (15 e 20%), os quais não haviam mostrado crescimento micelial nas placas contendo as concentrações testadas, indicando com isto que os mesmos possui apenas atividade fungistática. Por outro lado, o produto comercial Ecolife[®], mostrou inviabilidade do micélio de todos os discos do patógeno, nas concentrações de 0,5 e 1%, indicando com isto atividade fungicida direta, por apresentar toxicidade direta ao patógeno (Figura 3).

Furtado (16) verificou efeito fungicida de citronela (2,5%), eucalipto e extratos de alho a partir da concentração de 5% sobre *C. gloeosporioides*, *F. semitectum*, *C. eragrostidis*, e *C. lunata*, isolados de *Tapeinochillus ananasae*, uma vez que todos os discos mostraram inviabilidade do micélio, diferindo dos resultados observados neste trabalho.

¹ Yin, Mei-chin; Tsao, Shih-ming. 1999. Inibitory effect of seven *Allium* plants upon three *Aspergillus* species. *Internacional Journal of Food Microbiology*. v. 49, p.49-56.

Bastos (4), estudando o efeito de óleo de *Piper aduncum* L. sobre *Crinipellis perniciosa* Stahel (Singer) e outros fungos fitopatogênicos, observou inviabilidade do micélio de todos os discos que não havia apresentado crescimento nas placas contendo óleo, concluindo que o óleo de *P. aduncum* na concentração de 5% ou superior apresentou efeito fungicida, assim como o produto de biomassa cítrica Ecolife® estudado neste trabalho.

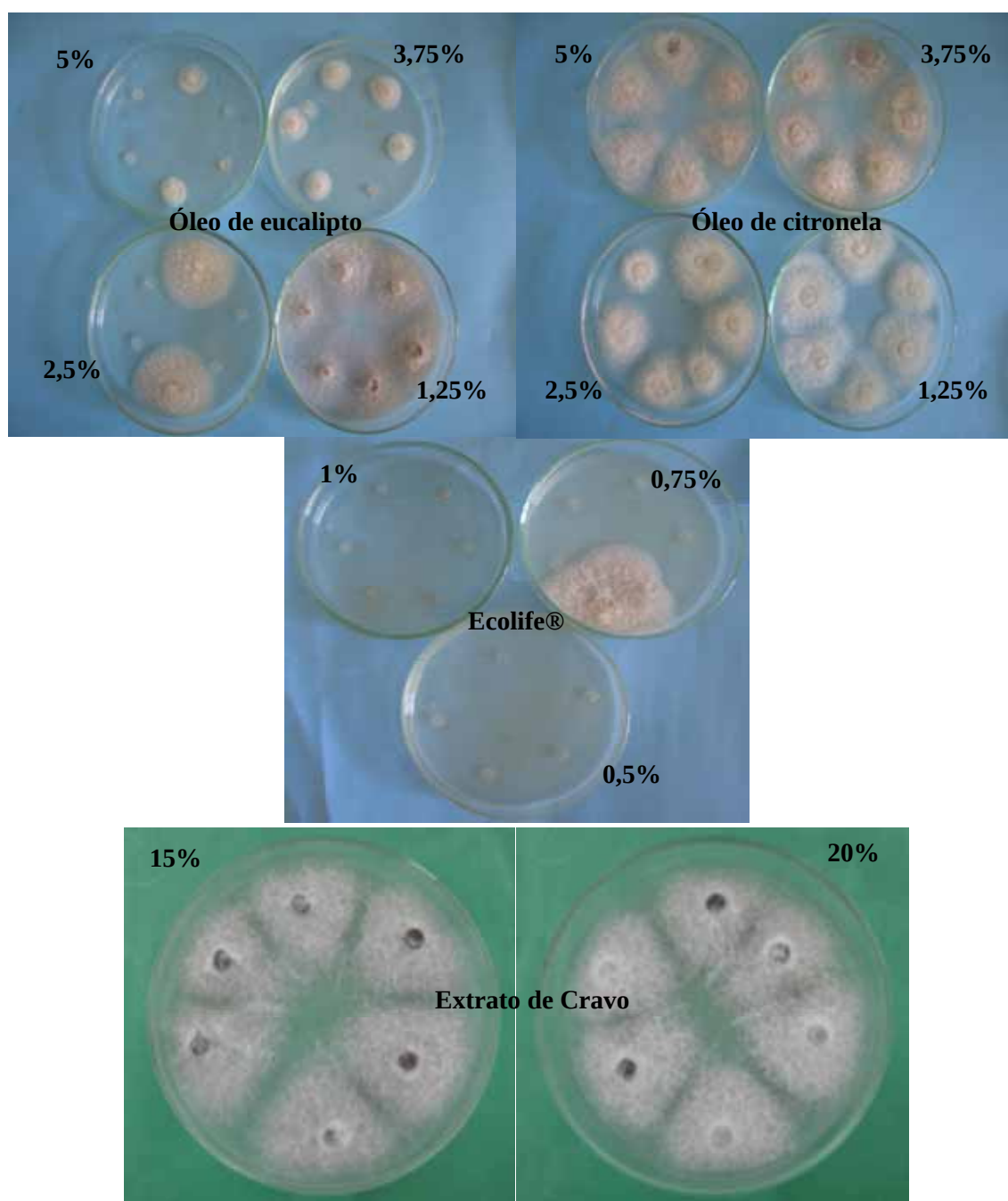


Figura 3 – Avaliação do efeito fungitoxico “in vitro” dos óleos de eucalipto e citronela, produto comercial Ecolife® e extrato de cravo.

- Controle “in vivo”

- Avaliação dos óleos essenciais, extratos vegetais aquosos e Ecolife[®] sobre a incidência do mal-do-Panamá.

Com relação aos resultados do efeito dos óleos essenciais, extratos vegetais e Ecolife[®] mediante a determinação da incidência da doença, através do índice da intensidade da doença (ID), pode-se observar que, com exceção do extrato de canela, óleo de cravo e o de eucalipto, os demais óleos e extratos vegetais estudados foram capazes de reduzir a incidência da doença, diferindo significativamente da testemunha ao nível de 5% de probabilidade. O óleo de citronela e os extratos de cravo, alho e Ecolife[®] apresentaram os melhores resultados, com ID = 25,29; 17,25 e 8,33%, respectivamente. O óleo de cravo, eucalipto, extrato de canela apresentaram um ID= 95,75 e 79%, respectivamente, superiores a testemunha (Figura 4).

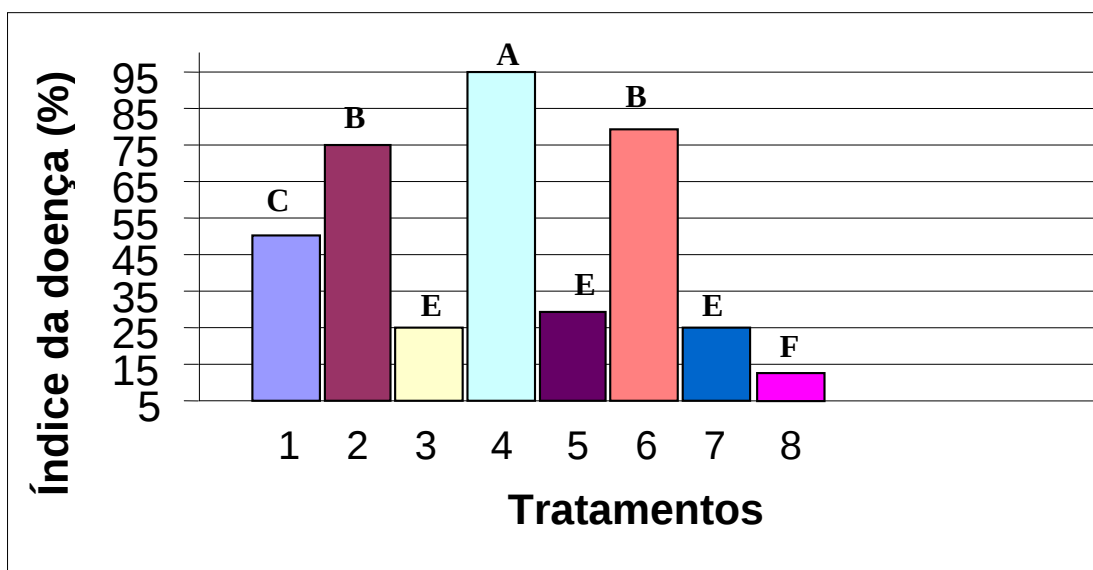


Figura 4 – Efeito dos óleos essenciais e extratos vegetais sobre a intensidade do Mal-do-Panamá: testemunha (1), óleo de eucalipto (2), óleo de citronela (3), óleo de cravo (4), extrato de cravo (5), extrato de canela (6), extrato de alho (7) e Ecolife® (8). Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan, ao nível 5% de probabilidade. CV = 6,20%.

Embora existam na literatura vários trabalhos mostrando a eficiência de extratos “in vitro”, sobre diferentes fitopatógenos, poucos trabalhos mostram o efeito destes sobre os fitopatógenos em plantas, principalmente com relação ao controle de *Fusarium* spp.. Exceto por Bowers & Locke (6), estudando o efeito de extratos botânicos na densidade de populações de *F. oxysporum* em solo afirmaram que houve resultados significativos quando aplicado emulsão aquosa de extratos formulados de cravo-da-índia, extrato de pimenta combinado com óleo essencial de mostarda e extrato de cássia aplicado no solo, favorecendo a redução da densidade do patógeno no solo e a redução de sintomas em plântulas de melão em casa de vegetação. O que sugere, por ser um patógeno de solo, que o seu controle deve ser mais fácil se realizado neste ambiente.

Os resultados observados nos tratamentos com óleo de cravo, eucalipto e extrato de canela não foram os esperados. Provavelmente, estes produtos possuem em suas constituições alguma substância que estimula o desenvolvimento da doença.

Possivelmente as substâncias químicas que compõem o extrato de biomassa cítrica, Ecolife[®] justifiquem os bons resultados observados nas mudas de bananeira tratadas com este extrato. De acordo com informações do seu fabricante, esse produto possui em sua constituição bioflavonóides cítricos, ácido ascórbico e fitoalexinas cítricas capazes de exercer efeito protetor e/ou curativo em alguns patossistemas. Santos et al. (24), estudando o efeito de extratos vegetais no progresso da doença foliares do cafeeiro orgânico, verificaram que o Ecolife[®] teve um desempenho intermediário aos melhores tratamentos e às testemunhas. Baguil et al (3) verificaram que este produto reduziu a mancha de *Phoma* em mudas de cafeeiro. Segundo Cavalcanti (7) este produto tanto funciona como indutor de resistência quanto por ação direta, uma vez que produziu atividade enzimática e deposição de lignina em folhas de tomateiro, induzindo resistência a *Xanthomonas vesicatoria*.

Apesar da escassez de trabalhos relacionados ao tratamento de plantas de bananeira com óleos essenciais e extratos vegetais, para o controle do mal-do-panamá, os resultados encontrados neste trabalho sugerem que o uso de óleo de citronela e dos extratos de cravo, alho e produto comercial Ecolife[®] têm potencial para o controle dessa doença e podem ser uma alternativa a mais a se somar às medidas de controle, sendo vista como uma nova tecnologia que possa ser repassada para pequenos produtores, minimizando o uso de fungicidas convencionais e conseqüentemente ajudando na preservação do meio ambiente, e na proteção à saúde dos trabalhadores, assim como na melhoria do produto com relação à qualidade e longevidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. Alves, E.S.S.; Pupo, M.S.; Marques, S.S.; Vilches, T.T.B.; Ventura, J.A.; Fernandes, P. M. B.; Santos, R. B. Avaliação de óleos essenciais na inibição do crescimento micelial de fungos de frutíferas tropicais. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, supl., p. 343-343, 2003. (Resumo).
02. Amadioha, A. C. Controlling rice blast “in vitro” and “in vivo” with extracts of *Azadirachta indica*. **Crop Protection**, Oxford, v.19, n.5, p.287-290, 2000.
03. Barguil, B. M.; Resende, M. L. V.; Resende, R. S.; Beserra Júnior, J. E. A.; Salgado, S. M. L. Effect of extracts from citric biomass, rusted coffee leaves and coffee berry husks on *Phoma costarricensis* of coffee plants. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n.5, p. 535-537, 2005.
04. Bastos, C. N. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipellis pernicioso* e outros fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v.22, n.3, p.441-443, 1997.
05. Bernardo, R.; Schwan-estrada, K. R. F.; Stangarlin, J. R.; Fiori, A. C. G. Efeito de extratos cítricos na indução de resistência e no crescimento micelial de fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v. 26, supl., p.313-313, 2001. (Resumo).
06. Bowers, J. H.; Locke, J. C. Efect of botanical extrats on the population density of *Fusarium oxysporum* in soil and control of Fusarium wilt in the greenhouse. **Plant Disease**. Minnesota, v.84, n.3, p.300-305, 2000.

07. Cavalcanti, F.R. **Resistência induzida a *Xanthomonas vesicatoria* em tomateiro e *Verticillium dahliae* em cacaueiro por extratos naturais: caracterização bioquímica, fisiológica e purificação parcial de elicitores protéicos** 2005. Tese (Doutorado) Universidade Federal de Lavras, Lavras.
08. Cordeiro, Z. J. M.; Matos, A. P. Doenças da bananeira. In: Freire, F. C., Cardoso, J. E. & Viana, F. M. P. (Eds). **Doenças de Fruteiras Tropicais de interesse agroindustrial**. Brasília, DF. EMBRAPA informação tecnológica. p.323-390. 2003.
09. Cordeiro, Z. J. M.; Matos, A. P. ; Kimati, H. Doenças da bananeira. In: **Manual de Fitopatologia**. Doenças das plantas cultivadas,v.2. Piracicaba-SP, 2005.
10. Chalfoun, S.M.; Carvalho V.D. Controle de fungos patogênicos através de extratos vegetais (Bulbos de alho e folhas de alho e cebola). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.16. supl., n.2, p.30-30, 1991. (Resumo)
11. Edginton, L. V.; Knew, K. L. ; Barron, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology**. Minnesota, v.62, p. 42-44. 1971.
12. FAO FAOSTAT-Agricultural statistics database. Rome: World agricultural Information Centre, 2003 Disponível em: MEDINA, J. C. Banana: cultura, material-prima, processamento e aspectos econômicos. 2. Ed. Campinas, 1995. 301p. Disponível em: <http://www.fao.org/waicent/agricult.htm>.

13. Furtado, D. C. M.. **Efeito de óleos essenciais e extratos vegetais no controle de *Fusarium semitectum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Curvularia lunata* E *Curvularia eragrostidis* EM *Tapeinochilus Ananassae*** 2006.88f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Federal de Alagoas, Maceió.
14. Gasparim, M. D. G.; Moraes, L. M.; Schwan-Estrada, K. R. F. Efeito do óleo essencial e do extrato bruto de alho (*Allium sativum*) no crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* e *Alternaria steviae*. In: **Congresso Paulista de Fitopatologia**, Botucatu, v. 21, supl., p.102-102, 1998. (Resumo)
15. Matos, A. P.; Cordeiro, Z. J. M.; Silveira, J. S. ; Ferreira, D. M. V. **O Mal-do-Panamá ou Murcha de *Fusarium* da bananeira**. In: Anais Norte Mineiro sobre a Cultura da Banana, Nova Porteirinha-MG, p. 38. 2001.
16. Mckinney, R.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**. v. 26:195-218. 1923.
17. Medice, R.; Magno, R.G.J.; Carrijo, E.P.; Alves, E.; Lopes, E.A.G.L. Uso de Óleo Essencial de Citronela (*Pelargonium graveolens*) no Controle da Germinação de Esporos da Ferrugem da Soja (*Phakospora pachyrhizi*). In: **XVII Congresso de Iniciação Científica da UFLA-CICESAL**. 2004. (Resumo).
18. Menezes, M. & Silva-Hanlin. **Guia prático para fungos fitopatogênicos**. Recife: UFRPE. P; 106. 1997.

19. Ribeiro, L.F. ; Bedendo, I.P. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* – agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. Sci. Agric [on line]. 1999 v. 56, n. 4, suplemento, p. 1267-1271. Disponível em: <http://www.scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010390161999000500031&Ing=pt&nrm=iso.ISSN 0103-9016>. Acesso em: 02 abr.2006
20. Rios, S.A. Canuto, R. S.; Ribeiro, Jr., P.M.S.; Sousa,L.T.; Santos,L.O.; Silva, J. J. C.; Normanha, R. A.; Pereira, M. R.; Dias, M. S. C. (EPAMIG). Inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum acutatum* Si. Mmonds, agente causal da flor preta do morangueiro (*Fragaria x ananassa* Dulch) com extrato de citronela (*Cymbopogon* sp). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, supl., p.360-360, 2003. (Resumo).
21. Stangarlin, J. R.; Schwan-Estrada, K. R. F.; Cruz, M. E. S.; Nozali, M. H. Plantas medicinais – Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. Brasília, v.11, p.16-21, 1999.
22. Stauffer, B. A; Orrego, F. A.; Aquino, J. A. Selección de extractos vegetales con efecto fungicida y\c bactericida. **Revista Ciência y Tecnología**: Dirección de Investigaciones – UMA, Madrid, v.1, n.2, 2000.
23. Santos, F. S.; Souza, P. E., Resende, M. L. V. et al. Efeito de extratos vegetais no progresso de doenças foliares do cafeeiro orgânico. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.32, n. 1, p.59-63, 2007.

24. Souza, S. M. C. de; Pereira, M. C.; Angélico, C. L. ; Pimenta, C. J. Avaliação de óleos essenciais de condimentos sobre o desenvolvimento micelial de fungos associados a produtos de panificação. **Ciência Agrotécnica**. Lavras, v.28, n. 3, p. 685-690, 2004
25. Teuscher, E. **Pharmazeutische Biologie**. Braunschweig: Vieweg, 1990.
26. Vilas-Boas, C. H.; Barreto, S. S.; Barguil, B. M.; Resende, M. V. L. Efeito do Ecolife[®] no crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.30, supl., p.158-158, 2004. (Resumo).

Avaliação de óleos essenciais, extratos vegetais aquosos, produto comercial Ecolife® e indutor comercial (ASM) no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (E.F.Smith) Sn & Hansen agente causal do mal-do-Panamá na Bananeira

RESUMO

Avaliou-se o efeito da aplicação de óleos e extratos vegetais em induzir resistência em mudas de bananeira inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), quanto ao controle do mal do panamá e a atividade enzimática. Utilizaram-se os seguintes tratamentos: óleo de citronela, de eucalipto, de cravo, extrato de cravo, de canela, alho, gengibre, manjerição, arruda, Ecolife® e ASM (5,0g de i.a/100L de água). Plantas de bananeira da variedade maçã foram pulverizadas com as soluções dos óleos e extratos vegetais e inoculadas após oito dias com uma suspensão de inóculo de Foc (10^4 con.mL⁻¹), pelo método de imersão das raízes, por uma hora. A avaliação da incidência da doença foi realizada 20 dias após a inoculação, através da escala de notas e índice de intensidade de doença (ID). As atividades da enzima fenilalanina amônia liase (FAL) foi determinado em plantas submetidas aos tratamentos, coletadas às 24, 48, 72, 144 e 288 horas após a inoculação. Foi observada diferença significativa entre os indutores e a testemunha, destacando-se Ecolife®, extrato de manjerição, óleo de citronela, óleo e extrato de cravo, e extrato de arruda que proporcionaram os menores índices de doença nas mudas de banana maçã, respectivamente com 8,33; 12,5; 25,0; 29,17; 25,0; e 41,67 %. O indutor Ecolife® apresentou o melhor desempenho em relação aos outros indutores testados e a testemunha, proporcionando um controle de 83,7% da doença. Todos os tratamentos analisados apresentaram a presença da enzima, variando o nível de acordo com a data de extração e o extrato ou óleo utilizado como indutor de resistência. O extrato de cravo apresentou uma alta atividade enzimática na extração 24 e 48 horas após a inoculação do inóculo.

Termos para indexação: atividade enzimática, FAL, indução de resistência.

ABSTRACT

The effect of the application of oils and vegetables extracts in inducing resistance in changes of banana tree inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) was evaluated how much to the control of the Panama disease and enzymatic activity. One used the following treatments: oil of citronella, eucalypt, crave, extract of crave, cinnamon, garlic, ginger, basil, arruda, Ecolife® and ASM (5,0g of i.a/100L of water). Plants of banana tree of the variety apple had been sprayed with the solutions of oils and extracts vegetables and after inoculated eight days with a suspension of inoculums of Foc (10^4 con.mL⁻¹), for the method of immersion of the roots, for one hour. The evaluation of the incidence of the disease was carried through 20 days after to the inoculation, through the scale of notes and index of disease intensity (ID). The activities of the phenylalanine ammonia lyase enzyme (PAL) had been determined in plants submitted to the treatments, collected to the 14, 48, 72, 144 and 288 hours after the inoculation. Significant difference between the inductors and the witness was observed, being distinguished Ecolife®, extract of basil, oil of citronella, oil and extract of crave, and extract of arruda that had provided to the minors index of disease in the apple banana changes, respectively with 8,33; 12,5; 25,0; 29,17; 25,0; e 41 67 %. The Ecolife® inductor presented the best performance in relation to the other tested inductors and the witness, providing a control of 83, 7%. All the analyzed treatments had presented the presence of the enzyme in accordance with, varying the level the date of extraction and the extract or used oil as inductive of resistance. The extract of crave presented one high enzymatic activity in extraction 24 and 48 hours after the inoculation of inoculate it.

Index Terms: enzymatic activity, PAL, inductive of resistance

INTRODUÇÃO

O Mal-do-Panamá é uma doença encontrada em todas as regiões produtoras de banana do Mundo. Sendo que no Brasil, este problema se torna mais grave devido o uso de variedades suscetíveis na implantação dos bananais e a dificuldade de controle da doença, tendo em vista a má aceitação da substituição das variedades suscetíveis pelas variedades resistentes, pelos produtores Cordeiro et al. (2). Tal fato justifica a busca de alternativas viáveis para o controle da doença.

A resistência induzida envolve a ativação dos mecanismos latentes de uma planta (5), quer seja pela utilização de agentes bióticos ou abióticos. Em resposta a indução, a planta pode apresentar um acúmulo de fitoalexinas e de proteínas relacionadas à patogênese (12). Os indutores podem atuar de formas diferenciadas, mas sempre levam à ativação do sistema de defesa das plantas. (14).

A Fenilalanina amônia liase (FAL) está ligada a síntese de compostos antimicrobianos, de baixo peso molecular, como fitoalexinas, além de flavonóides e da lignina. A presença de lignina nos tecidos serve de barreira mecânica contra o avanço de patógenos e esta indução de lignificação está relacionada com a resposta das plantas como defesa em várias interações patógeno/hospedeiros. (10).

Existem três formas de atuação na defesa das plantas. Uma chamada de resistência constitutiva, que é a primeira, que ocorre sem a ação de agentes agressores, ela torna as plantas imunes à maioria dos patógenos e é transferida por herança genética por seus ancestrais. A segunda forma é a resistência localizada que é ativada no ponto onde ocorre a invasão do agente agressor e a terceira é a resistência adquirida conhecida como SAR (systemic acquired resistance), a qual protege a planta contra outros ataques de um mesmo patógeno, sendo induzida por diferentes agentes. (7).

Os mecanismos de resistência são ativados próximo à área de infecção para tentar prevenir a difusão do patógeno ou deter a continua predação por insetos. A velocidade com que a planta reconhece a presença do agente agressor determinara o tempo de resposta à invasão, apresentando uma ou mais reações de defesa. Quando a resposta é mais rápida do que o processo de infecção, a planta pode conter o agente responsável pela resistência. (7).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de óleos essenciais, extratos vegetais e produtos comerciais na redução do índice da intensidade da doença (ID) e avaliar a atividade enzimática da FAL em mudas micropropagadas de banana maçã (cultivar suscetível), quando inoculadas com o patógeno *F. oxysporum* f.sp. *cubense*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Fitopatologia e casa de vegetação, Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade da Unidade Acadêmica do Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) – Campus Delza Gitai, em Rio Largo/AL, durante o período de dezembro de 2006 a abril de 2007.

Utilizou-se um isolado de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), obtido junto à micoteca do Laboratório de Fitopatologia, sendo o mesmo armazenado em Castellane a temperatura de 27°C.

Plantas micropropagadas de bananeira variedade Maçã (altamente suscetível), com 45 dias de idade, foram adquiridas na Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, Bahia. Sendo as mesmas transferidas para vasos de plástico pretos, contendo 2 kg de substrato esterilizado com brometo de metila.

- Obtenção dos óleos essenciais e extratos vegetais aquosos e Ecolife®

Os indutores consistiram de óleo de eucalipto variedade citriodora (*Eucalyptus* spp.), óleo de cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L), óleo de citronela (*Cymbopogon nardus*), extrato de cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L), extrato de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), extrato de alho (*Allium sativum* L), Ecolife®, gengibre (*Zingiber officinale* Rosc.), arruda (*Ruta graveolens*), manjerição (*Ocimum basilicum*) e ASM.

Os óleos de eucalipto e o óleo de cravo foram adquiridos sob a forma comercial. O óleo de citronela foi obtido pela metodologia de arraste de vapor d'água, descrito por Stangarlin et al (15).

Os extratos vegetais aquosos foram preparados, pesando-se 5 g do material vegetal e triturando-os em 50 mL de água destilada esterilizada em liquidificador por um tempo de 10 minutos, em seguida o material foi filtrado em gaze dupla, papel de filtro Whatman nº1 e membrana filtrante de porosidade de 0,45mm. Todos os extratos obtidos foram usados logo após a sua obtenção (13).

Para a obtenção do extrato de Arruda e Manjerição utilizaram-se folhas das respectivas plantas, as mesmas foram lavadas e pesadas. Para cada 30g de material vegetal foi adicionado 1 L de água destilada gelada, trituradas em liquidificador por cerca de 10 minutos e filtrada em gaze dupla e utilizada após a sua obtenção.(4)

Para a obtenção do extrato de gengibre foi utilizado 10g do rizoma do material vegetal com 10 mL de água destilada gelada, trituradas em liquidificador por cerca de 10 minutos e filtrada em gaze dupla, o extrato foi utilizado após a sua obtenção. (16)

O Indutor Comercial Acibenzolar-S-metil (ASM), formulado com 50 % do i.a. em grânulos (BION WG 50), obtido da Syngenta.

- Controle Alternativo com Extratos vegetais aquosos e a medida da atividade enzimática (FAL).

Os indutores de resistência foram pulverizados nas mudas de bananeira. Utilizou-se as concentrações de 1,25% para os óleos essenciais, 20% para os extratos de alho e canela, 15% para o extrato de cravo, dose mais econômica selecionada “in vitro” e 0,5% para o produto comercial Ecolife®, sendo aplicados 10 ml de cada solução por planta em todos os tratamentos. Plantas aspergidas somente com água destilada esterilizada serviram como testemunha. O indutor comercial (ASM) foi aplicados nas folhas de mudas de banana micropropagada na concentração de 5,0 mg do i.a.mL⁻¹ de água.

- Inoculação do Patógeno

F. oxysporum f. sp. *cubense* foi cultivado em meio BDA, incubado a temperatura aproximada de 27°C, por um período de oito dias. Procedendo-se após este período a obtenção da suspensão de conídios, cuja concentração foi determinada em câmara de Neubauer e ajustada para a concentração de 10⁴ conídios. ml⁻¹. As plantas de bananeira foram inoculadas oito dias após a aspersão dos óleos essenciais, extratos vegetais aquosos, produto comercial Ecolife® e ASM, pelo método de imersão das raízes na suspensão do inoculo, durante uma hora.

- Obtenção do Extrato Enzimático

As características relacionadas à resposta de defesa foram avaliadas em amostras de plantas para cada tratamento estudado. As extrações ocorreram às 24, 48, 72, 144 e 288

horas após a inoculação do patógeno. O material foliar coletado (1,0g) foi homogeneizado em almofariz e pistilo, previamente gelado, em tampão de extração (6,0mL) a solução foi centrifugada, em seguida, a 6000 g por 10 minutos a -4 °C. O sobrenadante foi diluído antes da análise da atividade enzimática pipetando-se 200 µL do mesmo e acrescentando-se 5 mL do tampão de extração. (3).

O tampão foi preparado com uma mistura de 22,2 g de Tris; 0,37 g EDTA; 85,5 g de sacarose; 1,0 g PVP e completou-se o volume para 1000 mL de água destilada, após ajustar o pH para 8,0 com ácido clorídrico 2,0 N.(14)

- Determinação da Atividade da FAL

A atividade enzimática (FAL) foi avaliada com base na diferença de absorbância resultante da conversão da fenilalanina em ácido trans-cinâmico (6). Para isto pipetou-se para tubos de ensaio, 1,5 ml de cada extrato enzimático, acrescentou-se 1,0 mL do tampão de extração e 0,5 mL de fenilalanina (0,4959 mg/mL) ou água destilada na prova em “branco”. A mistura foi incubada a 40 °C por 30 minutos, interrompendo-se a reação com banho de gelo e procedendo-se as leituras espectrofotométricas a 290 nm.

A severidade da murcha de fusário foi avaliada aos 20 dias após a inoculação do patógeno, através dos sintomas externos exibidos na planta, atribuindo-se notas de 0 a 4, conforme McKinney (9), onde: 0 = planta sadia; 1 = Plantas com 25% de folhas com sintomas de murcha e/ou amarelecimento; 2 = Plantas com 50% de folhas com sintomas de murcha e/ou amarelecimento; 3 = Plantas com 75% de folhas com sintomas de murcha e/ou amarelecimento e 4 = Plantas totalmente murcha ou mortas. Os dados de severidade de doença foram transformados para índice de intensidade de doença (ID), segundo Menezes & Silva-Hanlin (8). O Delineamento experimental utilizado foi inteiramente

casualizado, com 12 tratamentos e 6 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade. Esta análise estatística foi realizada pelo programa ESTAT.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

- Incidência do mal-do-Panamá

A Incidência do mal-do-Panamá em bananeira pulverizadas com os óleos essenciais, extratos vegetais aquosos, produto comercial Ecolife® e ASM foi menor do que na testemunha pulverizada com água, indicando que ocorreu ativação da resistência sistêmica mediada pelos indutores bióticos (Figura 1)

O óleo de citronela, extrato de cravo, extrato de alho, Ecolife®, extrato de manjerição e extrato de arruda proporcionaram os menores índice de doença nas mudas micropropagadas de banana maçã, respectivamente com 25,0; 29,17; 25,0; 8,33; 12,5 e 41 67 %. O indutor Ecolife® apresentou o melhor desempenho em relação aos outros indutores testados e a testemunha diferindo significativamente.

O óleo de eucalipto variedade citriodora, óleo de cravo, extrato de alho, ASM e extrato de gengibre, proporcionaram os maiores índice de doença nas bananeiras, respectivamente com 75,0; 95, 0, 79,17; 100 e 54,17%.

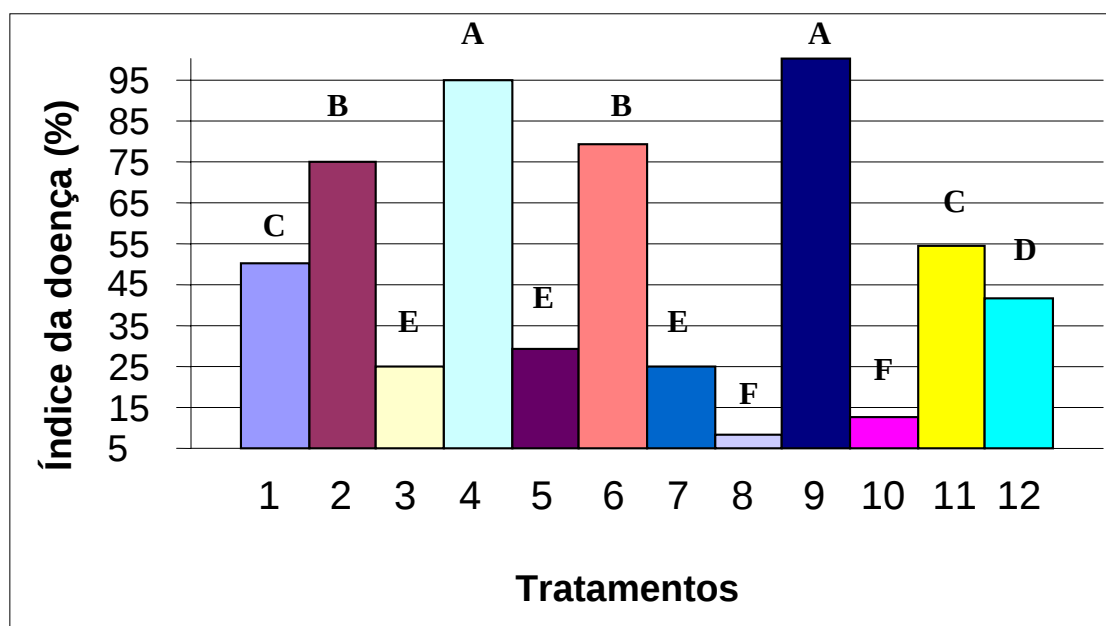


Figura 1 – Efeito de indutores no índice de intensidade de doença (ID) em mudas micropropagadas de banana maçã pulverizadas com água (testemunha) (1), óleo de eucalipto citriodora (2), óleo de citronela (3), óleo de cravo (4), extrato de cravo (5), extrato de canela (6), extrato de alho (7), ecolife (8), ASM (9), extrato de manjerição (10), extrato de gengibre (11) e extrato de arruda (12), após a inoculação com *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade. CV = 6,20%.

Rodrigues et al. (14) observaram que em cultivares de caupi suscetível e com resistência intermediária, foram inoculadas com *Fusarium oxysporum* f.sp. *tracheiphilum* e induzidas com ASM houve um controle da murcha de fusário nas duas cultivares testadas, sendo de 68, 90% para a BR-17(cultivar suscetível) e 71,59% para a IPA-206 (cultivar com resistência intermediária) fato este que difere do encontrado neste trabalho onde o indutor ASM foi o que proporcionou um maior índice de doença na variedade suscetível, sendo portanto ineficiente na indução de resistência em mudas de bananeira cultivar maçã.

Resultado semelhante foi encontrado por Soares et al. (17) estudando o efeito do indutor ASM em feijoeiro comum inoculado com *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* onde foi confirmada a ineficiência do indutor no controle da murcha-de-*Curtobacterium* na cultivar suscetível a IAC Carioca.

O uso de extratos vegetais e óleos essenciais como indutores especialmente o extrato de cravo e alho, Ecolife®, manjerição e óleo de citronela, reduziram a incidência da mal-do-Panamá, desencadeando a produção da FAL como mecanismos bioquímico de resistência adquirida, podendo ser utilizado no manejo da doença na cultura da bananeira.

- Atividade Bioquímica

Com relação à atividade enzimática da Fenilalanina amônia liase (FAL), todos os tratamentos analisados apresentaram a presença da enzima, o nível variou entre a data de extração e o extrato vegetal aquoso ou óleo essencial utilizado como indutor de resistência, podemos observar que a presença da enzima foi maior na extração feita 48 horas após a inoculação do patógeno, decaindo às 72 horas e se mantendo estável no decorrer das outras extrações (144 e 288 horas) que pode ser observado na Figura 2.

Pode-se observar que as plantas que receberam o extrato de cravo apresentaram uma alta atividade enzimática após 24 e 48 horas da inoculação patógeno, na extração de 72 horas não houve a presença da enzima e as 144 houve um outro pico da enzima. Este fato pode ser explicado por haver algum composto fenólico que impediu a absorbância do extrato de cravo. A atividade da FAL elicitada por extrato de cravo foi de 0,35 e 0,32 $\Delta\text{abs}_{290}.\text{min}^{-1}$

Silva & Bach (15), observaram que extrato de gengibre foi capaz de induzir resistência em cevada contra o fungo *Bipolaris sorokiniana*, com proteção acima de 90% tendo um aumento em função do tempo.

Felipe & Bach (4), estudando extrato de manjerição como indutor de resistência em plantas de cevada, verificou que as mesmas apresentaram indução quando foram aspergidos antes da inoculação do patógeno, apresentando uma resposta de defesa entre 92 a 96,55% contra o fungo *Bipolaris sorokiniana*, sendo observado também um aumento em função do tempo entre a aplicação do indutor e a inoculação do patógeno.

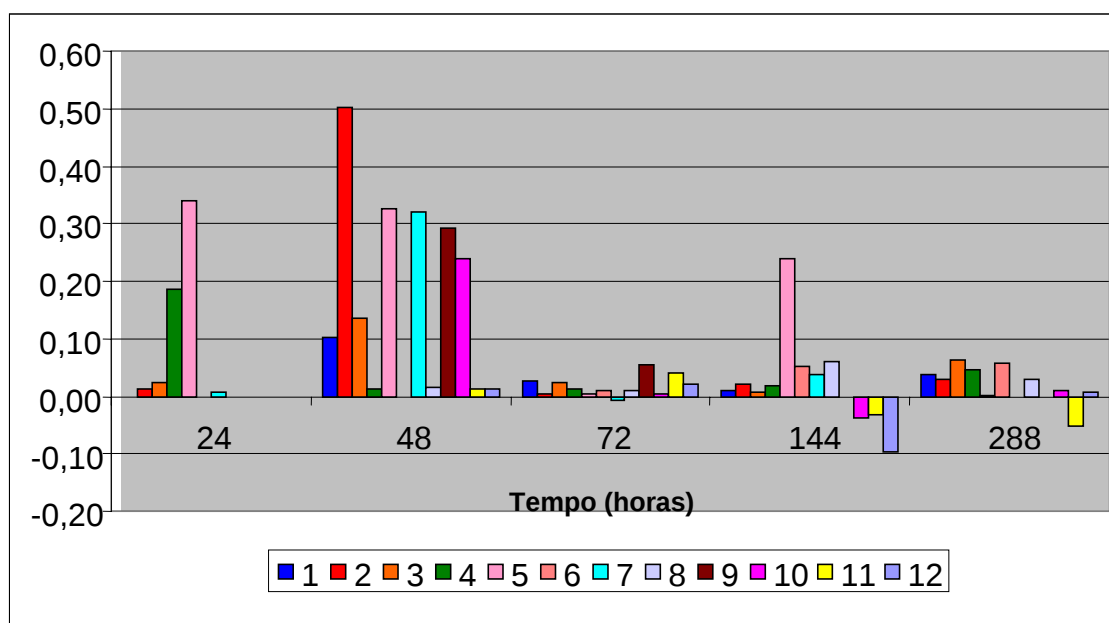


Figura 1 – Atividade de FAL em mudas micropropagadas de banana maçã induzidas com nos extratos vegetais e óleos essenciais: testemunha (1), óleo de eucalipto citriodora (2), óleo de citronela (3), óleo de cravo (4), extrato de cravo (5), extrato de canela (6), extrato de alho (7), ecolife (8), ASM (9), extrato de manjerição (10), extrato de gengibre (11) e extrato de arruda (12) as 24, 48, 72, 144 e 288 horas após a inoculação com *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*.

A atividade da FAL está relacionada com a resistência de plantas a patógenos, notadamente, por estar envolvida no primeiro passo da síntese de fenilpropanóides, com participação da fenilalanina e sua conversão em ácidos-transcinâmico, catalizada pela FAL, resultando em compostos como fitoalexinas e, principalmente, lignina, que confere maior resistência à parede celular das plantas aos patógenos (10)

Observou-se uma baixa atividade enzimática dos extratos obtidos a partir das folhas de bananeira, após 72 horas da inoculação que pode estar associada com a época de avaliação, uma vez que o pico da atividade enzimática acontece em um período muito curto, possivelmente por esta enzima ser expressa no início da SAR.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. Bonaldo, S.M., Schwan-Estrada, K.R.F., Stangarlin, J.R., Tessmann, D.J & Scapim, C.A. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 128-134, 2004.
02. Cordeiro, Z.J.M; Matos, A.P. de; Filho, P.E.M. Doenças e Métodos de Controle. In: Borges, A.L. & Souza, L.da S. (Eds.) O Cultivo da Bananeira. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. Cap. 9:146-182.
03. Dann, E.K. & Deverall, B.J. Activation of systemic disease resistance in pea by an avirulent bacterium or benzothiadiazole, but no by fungal leaf spot pathogen. **Plant Pathology**, v. 49, p. 324-332. 2000.
04. Felipe, T.A. & Bach, E.E. Extrato de manjeriço como indutor de resistência em plantas de cevada (variedade embrapa 128) contra *Bipolaris sorokiniana*. Arq. Inst.Biol, São Paulo, v. 71, supl. p.1-749, 2004.
05. Hammerschmidt, H. & Dann, E.K. Induced resistance to disease, In: Rechcigl, N.A. & Rechcigl, J.E. (Eds.) Environmentally Safe Approaches to Crop Disease Control. Boca Raton: CRC – Lewis Publishers, 1997. Cap. 8: 177-199.

06. Hyodo, H.; Kuroda, H. & Yang, S.F. Induction of phenylalanine ammonia-lyase and increase in phenolics in lettuce leaves in relation to the development of russet spotting caused by ethylene, *Plant Physiology*. v. 62. p. 31-35. 1978.
07. Margis-Pinheiro, M.; Sandroni, M.; Lummerzheim, M.; Oliveira, D. E. de. A defesa das plantas contra as doenças. *Ciências Hoje*, v. 147. p. 1-11, 1999.
08. Menezes, M. & Silva-Hanlin. Guia pratico para fungos fitopatogênicos. Recife: UFRPE. P; 106. 1997.
09. Mckinney, R.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**.v. 26:195-218. 1923.
10. Nakazana, A.; Nozue, M; Yasuda, H. Expression pattern and gene structure of phenylalanine ammonia-lyase in *Phabitis mil*. *Journal of Plant Research* 1114: 323-328. 2001.
11. Neto, E.B & Barreto, L.P. Analises Bioquímicas e Físico-Químicas em Pós-Colheita. In: . Patologia pós-colheita: Frutas, olerícolas e ornamentais tropicais. UFPE-EMBRAPA. 2006. Cap 17: 443-472.
12. Pascholati, S.F. Potencial de *Saccharomyces cerevisiae* e outros agentes bióticos na proteção de plantas contra patógenos. (Tese de Livre Docência) . Piracicaba. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 1998.

13. Ribeiro, L.F. & Bedendo, I.P. Efeito inibitorio de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* –agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. *Scientia Agrícola*, v. 56, n.4. supl. p. 1267-1271, 1999.
14. Rodrigues, A.A.C.; Bezerra Neto, E. & Coelho, R.S.B. Indução de resistência a *Fusarium oxysporum* f.sp. *trapcheiphilum* em caupi: eficiência de indutores abióticos e atividade enzimática elicitada. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 5, p. 492-499. 2006.
15. Stangarlin, J. R.; Schwan-Estrada, K. R. F.; Cruz, M. E. S.; Nozali, M. H. Plantas medicinais – Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. Brasília, v.11, p.16-21, 1999.
16. Silva, A.A.O. & Bach,E.E. Indução de resistência em plantas de cevada contra *Bipolaris sorokiniana* utilizando extrato de gengibre. *Arq. Inst.Biol, São Paulo*, v. 71, supl. p.1-749, 2004
17. Soares, R.M., Maringoni, A.C. & Lima, G. P.P. Ineficiência de acibenzolar-S-methyl na indução de resistência de feijoeiro à murcha-de-Curtobacterium. *Fitopatologia Brasileira*, v. 29. n. 4, p. 373-377, 2004.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

01. O uso de fungicidas na agricultura assusta tanto os agricultores quanto os consumidores, uma vez que contamina os alimentos, o solo, a água e o próprio homem.
02. A resistência ao uso de fungicidas é evidente, tanto pelo procedimento de controle, quanto pelo custo e manuseio do fungicida o que levou os agricultores a manifestarem o interesse pela implantação de estratégias de controle alternativo de doenças, onde se pode incluir a aplicação de substâncias naturais.
03. Este trabalho mostrou a possibilidade da aplicação deste método. No entanto, para que essa possibilidade se torne uma realidade, estudos mais detalhados sobre a fisiologia de parasitismo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* precisam ser incentivados, visando a ampliação do número de substâncias, bem como um estudo de campo para avaliar o uso de extratos vegetais e óleos essenciais no controle do mal do panamá, ao longo da região produtora de banana do Estado de Alagoas.
04. Os métodos de aplicação das substâncias naturais, os períodos de incubação e a identificação e quantificação de enzimas e proteínas envolvidas na indução de resistência do hospedeiro à doença podem ser sugestões de temas para o desenvolvimento de pesquisas mais detalhadas visando o esclarecimento da fisiologia do parasitismo do patógeno, de forma a obter um controle alternativo da doença.