



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018
Marília - SP

AValiação DE GERMINAÇÃO DE ESPOROS DE *Hemileia vastatrix* UTILIZANDO EXTRATO ETANÓLICO DE FOLHAS DE NIM (*Azadirachta indica*)

Danilo Duarte¹ Marcelo Oliveira² Krishna Santana² Regiane Iost³

¹Engenheiro Agrônomo - sampaiosegredo@gmail.com ² Discente do curso de Agronomia da Faculdade de Ensino Superior e Formação Integral – FAEF marcelomunhozagro@gmail.com; krishna.galvao@hotmail.com ³Docente do curso de Agronomia da Faculdade de Ensino Superior e Formação Integral – FAEF regianeios@gmail.com

RESUMO

A ferrugem do cafeeiro, causada pelo fungo *Hemileia vastatrix* é uma das principais doenças da cultura, podendo causar perdas de até 50% na produção por causar desfolha precoce na planta. Devido ao apelo por redução de impactos ambientais causados por defensivos agrícolas, muitas plantas estão sendo estudadas por possuir princípios ativos que atuam no controle de pragas e doenças, dentre elas as da família Meliaceae se mostraram mais promissoras, e o nim (*Azadirachta indica*) destaca-se por possuir princípios ativos eficazes no controle fitopatogênico e entomológico. O presente teve o objetivo de avaliar o potencial de inibição de germinação de uredósporos do fungo *H. vastatrix* utilizando extrato etanólico de folhas de nim (*A. indica*). A avaliação mostrou que independente da concentração utilizada, o produto mostrou-se eficaz na inibição da germinação dos esporos, variando de 43,5% de inibição na concentração mais baixa (1%) a 67,78% de inibição na concentração mais elevada (4%). Pesquisas em campo e casa de vegetação são necessárias para obtermos resultados mais conclusivos, visto que o nim pode apresentar fitotoxicidade, podendo causar danos severos dependendo da quantidade aplicada.

Palavras-chave: *Azadirachta indica*, *hemileia vastatrix*, controle orgânico, germinação de esporos

INTRODUÇÃO

A ferrugem do cafeeiro, causada pelo fungo *Hemileia vastatrix* Berk et Br., foi descrita pela primeira vez no Sri Lanka em 1869 por Berkeley, e desde então espalhou-se pelo mundo tornando-se uma das principais doenças da cultura (KIMATI et. al., 2005). Seus principais danos são a desfolha, causando conseqüentemente queda de produtividade em até 30% se não for controlada (MATIELLO et al., 1985). Segundo Zambolim & Vale (2000), ataques severos da doença promovem grande desfolha e provocam perdas de até 50% da produtividade e na qualidade da produção em anos de grande déficit hídrico.

Os fungicidas sintéticos apresentam alta eficiência de controle, porém o alto custo, a indução de resistência dos microrganismos e o apelo sobre redução de impactos ambientais incentivaram os fitopatologistas a encontrar métodos alternativos para o manejo de doenças, como o controle biológico, caracterizado como a redução de inóculos das atividades



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018
Marília - SP

determinantes da doença realizada por ou através de um ou mais microrganismos que não o homem (COOK & BAKER, 1983) e a utilização de produtos botânicos .

Uma das plantas que está sendo amplamente estudada nesta área é o Nim (*Azadirachta indica*) e é considerada a mais importante e promissora espécie vegetal com atividade contra pragas e doenças (MARTINEZ, 2011).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de inibição de germinação de urediniósporos de *Hemileia vastatrix* utilizando extrato etanólico de folhas de nim.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de fitopatologia da Faculdade de Ensino Superior e Formação Integral – FAEF, localizada no município de Garça/SP. As folhas de *Coffea arabica* cv. Mundo Novo com presença de lesões causadas por *Hemileia vastatrix* em fase de esporulação e sem a aplicação de produtos fitossanitários foram coletadas no Sítio São Bento (coordenadas aproximadas: latitude -22.210539, longitude -49.709813). As lesões foram raspadas utilizando-se um pincel, totalizando um peso aproximado de 0,5g de esporos. Em seguida foram adicionados 50ml de água destilada ao Becker e adicionados os esporos para a confecção da suspensão.

O extrato etanólico de nim foi obtido a partir de folhas coletadas diretamente da planta, localizada no sítio Recanto do Vale (coordenadas aproximadas: latitude -22.237264, longitude -49.772355). As folhas foram lavadas para retirada de impurezas e secas a sombra durante sete dias. Após a secagem foi feita uma moagem manual, obtendo-se 350g de pó de folhas secas. Para confecção do extrato foi utilizado álcool 96%, previamente resfriado durante cinco dias. A proporção utilizada foi de 2L de álcool para 350g de pó de folhas de nim. Após feita a mistura, o produto foi deixado em repouso durante um período de 15 dias em local escuro, sendo agitado uma vez por dia para melhor extração dos princípios ativos. Depois de 15 dias, o extrato foi coado três vezes utilizando-se um tecido fino, e em seguida armazenado em frascos herméticos.

O extrato foi diluído em água para obter as concentrações de 1,0%, 2,0%, 3,0%, 4,0%. Além destas concentrações foi testado o extrato etanólico puro e a testemunha somente água pura.

Foram confeccionadas dez lâminas para cada tratamento, revestidas por uma fina camada (1 ml) de Batata Dextrose Ágar (BDA) . Após a confecção, foi adicionado 40µL da



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018

Marília - SP

suspensão de esporos e 40 μ L do extrato etanólico. As lâminas foram acondicionadas em caixas de plástico contendo espuma umedecida tampadas com vidro para manter a umidade.

Foram feitas três avaliações de germinação dos esporos de *Hemileia vastatrix*, com seis horas, 12 horas e 24 horas após a inoculação, através da contagem dos primeiros 300 esporos encontrados na lâmina.

O delineamento foi em blocos com repetições.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que após seis horas, a testemunha apresentou uma germinação média de 148,9/300 esporos, sendo que a concentração de 1% apresentou média de germinação de 118,4/300 esporos, a concentração de 2% apresentou média de germinação de 94,6/300 esporos, a concentração de 3% apresentou média de germinação de 80,8/300 esporos, de 4% apresentou média de 76/300 e o extrato puro apresentou média de germinação de 53,2/300 esporos, que representam uma redução de germinação em relação à testemunha de 20,48%, 36,27%, 45,74%, 48,96%, 64,27%, respectivamente.

Na avaliação com 12 horas após a inoculação, foi observada uma média de germinação de 215,6/300 esporos na testemunha, enquanto as concentrações de 1%, 2%, 3%, 4% e 100% (extrato puro) apresentaram média de germinação de 137/300, 106,4/300, 89,9/300, 83/300 e 54,2/300 esporos, respectivamente, o que representa uma redução de germinação em relação à testemunha de 36,46% para a menor concentração (1%), de 50,65% para a concentração de 2%, de 58,3% para a concentração de 3%, de 61,5% para a concentração de 4% e redução de germinação de 74,86% para o extrato puro.

A avaliação final foi feita após 24 horas da inoculação, e a testemunha apresentou média de germinação de 266/300 esporos, a concentração de 1% apresentou média de germinação de 150,3/300 esporos, a concentração de 2% apresentou média de 115,4/300, a de 3% apresentou germinação média de 95,6/300, a concentração de 4% apresentou média de 85,7/300 e o extrato puro apresentou uma germinação de esporos média de 55,4/300, representando uma redução de germinação em relação à testemunha de 43,5%, 56,62%, 64,06%, 67,78% e 79,17% para as concentrações de 1%, 2%, 3%, 4% e 100% (extrato puro), respectivamente.

A concentração de 1% foi a menos eficaz no controle de germinação de esporos de *Hemileia vastatrix*, mas mesmo assim reduziu em 43,5% em relação à testemunha a germinação de esporos após 24 horas. As concentrações de 2% e 3% não apresentaram



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018
Marília - SP

diferença significativas entre elas segundo o teste de Tukey, assim como as concentrações de 3% e 4%, porém a concentração de 2% apresentou menor poder de inibição da germinação quando comparada a concentração de 4%. O extrato puro foi o que se mostrou mais eficaz na inibição de germinação dos esporos, porém o álcool pode ter interferido no resultado final.

CONCLUSÃO

O nim apresentou poder de inibição de germinação de esporos independente da concentração. No entanto, é válido ressaltar que o fungo *Hemileia vastatrix* é um microrganismo biotrófico que necessita do hospedeiro vivo para continuar seu ciclo e o nim pode apresentar fitotoxicidade, podendo causar danos severos dependendo das quantidades aplicadas. Sendo assim, pesquisas em campo e em casa de vegetação são necessárias para obtermos resultados mais conclusivos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley, 1990.532p.

CARVALHO, V.L.; CHALFOUN, S.M.; CARVALHO, V.D. de; CASTRO, H.A. de. Efeito dos níveis de carga pendente e estágio de desenvolvimento dos frutos sobre a evolução e intensidade de ataque de *Hemileia vastatrix* Berk. & Br., agente da ferrugem do cafeeiro. **Ciência e Prática, Lavras**, v. 4, n. 17, p.351-356, out./dez. 1994.

CARVALHO, V.L. & CHALFOUN, S.M. **Manejo integrado das principais doenças do cafeeiro**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, 193 (19):27-35, 1998.

CHALFOUN, S.M. **Doenças do cafeeiro: importância, identificação e métodos de controle**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1997, 96p.

CHAVES, G.M.; CRUZ, J.F.; CARVALHO, M.G.; MATSUOKA, K.; COELHO, D.T.; SHIMOYA, C. **A ferrugem do cafeeiro**. São Paulo, Seiva. 1970. 75 p.

COOK, R.J., BAKER, K.F. **The Nature and Practice of Biological Control Of Plant Patogens**. Amer. Phytopathol. Soc., St. Paul, Minnesota. 1983. 539p.

COUTINHO, T.A., RIJKENBERG, F.H.J., AND VAN ASCH, M.A.J. Teliospores of *Hemileia vastatrix*. **Mycol. Res.** 99: 932-934, 1995.



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia
20 a 22 de fevereiro de 2018
Marília - SP

GODOY, C. V.; BERGAMIN FILHO, A.; SALGADO, C. L. Doenças do cafeeiro. In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia**. 3 ed., vol. 2 . São Paulo, Agronômica Ceres, 1997. 774 p.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. *Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas*. 4.ed. São Paulo: Ceres, 2005. 663p.

KUSHALAPPA, A.C. & ESKES, A.B. **Coffee rust: epidemiology, resistance and management**. CRC Press, Boca Raton, 1989.

MARTINEZ, J.A.; PALAZZO, DA.; KARAZAWA, M. Importance of the wind in the release and dissemination of spores of *Hemileia vastatrix*. **Fitopatologia Brasileira**, 2:35-42, 1977.

MATIELLO J.B. **Cultura de café no Brasil: Manual de recomendações**. 5 ed. Rio de Janeiro, IBC/GERCA, 1985. 580p.

MATIELLO, J.B. **O café: do cultivo ao consumo**. São Paulo, Editora Globo. 1991. 320p.

MATIELLO, J. B.; SANTINATO, R.; GARCIA, A. W. R.; ALMEIDA, S. R.; FERNANDES, D. R. **Cultura de café no Brasil. Novo manual de recomendações**. In: MATIELLO, J. B. MAPA/PROCAFÉ. Rio de Janeiro, 2002. p. 387.

MORAES, S.A. **A ferrugem do cafeeiro: importância, condições predisponentes, evolução e situação no Brasil**. Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, 1983. 50p.

SILVA, M. C.; NICOLE, M.; GUERRA-GUIMARÃES, L.; RODRIGUES JR., C. J. Hypersensitive cell death and post-haustorial defence resposts arrest the orange rust (*Hemileia vastatrix*) growth in resistant coffee leaves. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 60:169-183, 2002.

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.

VAN DER VOSSSEN, H. A. M. Agronomy I: coffee breeding practices. In: CLARKE, R. J.; VITZTHUM, O. G. **Coffee: recent developments**. Blackwell Science, Oxford. 184-201, 2001.



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia
20 a 22 de fevereiro de 2018
Marília - SP

WELLMAN, F.L. Coffee yellow rust. World history, minimizing losses in tropical America. In: **Reunion Tecnica Sobre Las Royas De Cafeto**. II CA. Sao Jose, Costa Rica. 1970. 38p.

ZAMBOLIM, L., VALE, F.X.R., PEREIRA, A.A. & CHAVES, G.M. Café (*Coffea arabica* L.), controle de doenças causadas por fungos, bactérias e vírus. In: VALE, F.X.R. & ZAMBOLIM, L. (Eds.) **Controle de doenças de plantas**. Viçosa, Minas Gerais. Suprema Gráfica e Editora. 83-180, 1997.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R. do; COSTA, H.; PEREIRA, A. A.; CHAVES, G. M. Epidemiologia e controle integrado da ferrugem-do-cafeeiro. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **O estado da arte de tecnologias na produção de café**. Viçosa: UFV, 2002. p. 369-450.

ZAMBOLIM, L.; MARTINS, MC. DEL P; CHAVES, G.M. **Café: principais doenças do cafeeiro e seu controle**. Informe Agropecuário 11:64-75, 1985.

ZAMBOLIN, L & VALE, F.X.R. Perdas na produtividade e qualidade do cafeeiro causadas por doenças bióticas e abióticas. In: Zambolim, L (Ed.). **Café - Produtividade, Qualidade e Sustentabilidade**. Viçosa. Universidade Federal de Viçosa. 2000. p.239-261.