

11467 - Extrato aquoso de *Corymbia citriodora* no controle alternativo da antracnose em pepino e do crestamento bacteriano em feijão

Corymbia citriodora aqueous extract for common bacterial blight on bean and anthracnose on cucumber alternative control

FRANZENER, Gilmar¹; MOURA, Gabriela Silva²; MEINERZ, Cristiane Cláudia³; SCHWAN-ESTRADA, Kátia Regina Freitas⁴; STANGARLIN, José Renato⁵;

¹Universidade Federal da Fronteira Sul-UFFS, Campus de Laranjeiras do Sul-PR, e-mail: gilmar.franzener@uffs.edu.br, ²Universidade Estadual de Maringá-UEM, bismoura@hotmail.com; ³Universidade Estadual do oeste do Paraná-UNIOESTE, crismeinerz@hotmail.com; ⁴UEM, krfschwan@uem.br; ⁵UNIOESTE, jose.stangarlin@unioeste.br

Resumo: Metabólitos secundários de plantas podem representar opção no controle alternativo de doenças em plantas. Este trabalho teve por objetivo avaliar o extrato aquoso de *Corymbia citriodora* no controle da antracnose em pepino e do crestamento bacteriano em feijão. A atividade indutora da enzima de defesa peroxidase também foi avaliada. Experimentos foram conduzidos em plântulas de pepino e feijão que receberam uma ou duas aplicações do extrato aquoso antes da inoculação com o patógeno. O extrato aquoso reduziu a severidade da antracnose bem como induziu a atividade de peroxidases em pepino e feijão sugerindo possível efeito indutor de resistência nessas culturas.

Palavras-Chave: Plantas medicinais, indução de resistência, *Colletotrichum lagenarium*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*.

Abstract: Plant secondary metabolites may represent an alternative for the plant diseases control. The aim of this work was evaluate the *Corymbia citriodora* aqueous extract for cucumber anthracnose and bean bacterial blight control. The induction in peroxidase activity was also evaluated. Experiments were conducted in cucumber and bean seedlings. Was evaluated one or two applications of the aqueous extract before to pathogen inoculation. The extract reduced the severity of anthracnose and promoted induction of peroxidase activity in cucumber and bean suggesting a possible resistance inductin in these cultures.

Key Words: Medicinal plants, resistance induction, *Colletotrichum lagenarium*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*.

Introdução

Plantas com propriedades medicinais podem apresentar grande importância em sistemas agroecológicos. Um desses aspectos é o controle alternativo de artrópodes fitófagos e doenças em plantas (BURG e MAYER, 2006).

Nos últimos anos, muitos trabalhos tem relatado o potencial de óleos essenciais e extratos de plantas medicinais como alternativa no controle de doenças em plantas tanto por sua ação fungitóxica direta ou ativando mecanismos de defesa nas plantas (STANGARLIN, 1999). Alguns trabalhos têm destacado o potencial do extrato de eucalipto-citriodora ou eucalipto-cheiroso (*Corymbia citriodora*). Bonaldo *et al.* (2004) relataram atividade antifúngica, indutora de fitoalexinas e redução no número de lesões

da antracnose em pepino pelo extrato aquoso de *C. citriodora*. No entanto, ainda são poucas informações sobre formas de utilização e mecanismos de ação envolvidos, se apenas sobre o patógeno ou ativando enzimas de defesa da planta.

Embora a utilização de derivados de plantas medicinais para controle alternativo não deve buscar a mera substituição de insumos, esse conhecimento contribui para disponibilizar alternativas de manejo de menor impacto sobre o equilíbrio biológico, representando fundamental importância principalmente no processo de transição para sistemas sustentáveis.

Entre as doenças em plantas cultivadas de ocorrência muito comum em sistemas agroecológicos estão a antracnose em cucurbitáceas e o cretamento bacteriano comum em feijoeiro. A antracnose é uma doença muito importante não apenas pela frequência com que ocorre como também pelos danos que causa à cultura de pepino, melão e melancia. Nas cucurbitáceas, o agente causal da antracnose é o fungo *Colletotrichum lagenarium* (KUROZAWA; PAVAN; REZENDE, 2005). O cretamento bacteriano comum, causado pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* é uma das principais doenças do feijoeiro em todo o mundo. A importância dessa doença se dá principalmente pela agressividade do patógeno e dificuldade para seu controle (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005).

Diante disso, este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do extrato aquoso de *C. citriodora* para controle alternativo da antracnose em pepino e do cretamento bacteriano em feijão.

Metodologia

As folhas de *C. citriodora* foram obtidas do horto de plantas medicinais da Universidade Estadual de Maringá/PR. O extrato aquoso a 20% foi obtido conforme Stangarlin *et al* (1999). Para tanto, folhas frescas de *C. citriodora* foram coletadas, pesadas e trituradas em liquidificador com água destilada na proporção de 20 g de material vegetal em 100 mL de água. Este extrato foi então passado em gaze e filtrado em funil de porcelana, utilizando-se papel de filtro Whatman n. 41.

Foram conduzidos experimentos em plântulas de pepino e feijão. Para tanto, sementes de pepino cultivar Caipira Esmeralda e de feijão cultivar IPR-Colibri foram semeadas em bandejas com 128 células contendo substrato orgânico e mantidas em casa-de-vegetação. Em pepino, seis dias após a semeadura os cotilédones das plântulas receberam os tratamentos através de aspersão e após três dias as plântulas foram inoculadas por aspersão com suspensão de conídios de *C. lagenarium* (1×10^5 conídios mL⁻¹). Em feijão, oito dias após a semeadura, plântulas com duas folhas verdadeiras receberam os tratamentos e após três dias foram inoculadas por aspersão com suspensão de *X. axonopodis* pv. *phaseoli* (1×10^8 UFC mL⁻¹). Após a inoculação as plantas foram mantidas em câmara úmida por 24 h. A avaliação da severidade das doenças foi realizada 10 dias após a inoculação.

Outro experimento foi conduzido em pepino e feijão empregando o mesmo procedimento do anterior, porém, nesse caso, ao invés de inoculação com o patógeno, amostras com aproximadamente 0,5g de tecido vegetal foram coletados, pesados e armazenados a -20°C para posterior análise da enzima peroxidase.

Os patógenos *C. lagenarium* e *X. axonopodis* pv. *phaseoli* foram isolados de folhas sintomáticas de pepino e feijão e cultivados em meio BDA (batata-dextrose-ágar) e AN (ágar nutriente), respectivamente.

O extrato aquoso foi aplicado uma única vez ou em duas aplicações, sendo a segunda três dias após a primeira. A inoculação com o patógeno ou coleta de amostras para atividade enzimática foram realizadas 72 horas após a última aplicação. Constituíram testemunhas água destilada e produto comercial considerado ativador de plantas ASM (50 mg i.a.L⁻¹) (aplicados uma única vez).

As amostras de tecido foliar foram homogeneizadas em 4 mL de tampão fostafo 0,01 M (pH 6,0) contendo 1% (p/p) de PVP (polivinil-pirrolidona), em almofariz de porcelana. O homogeneizado foi centrifugado a 20.000g durante 25 min a 4°C. O sobrenadante obtido foi utilizado para a determinação da atividade de peroxidase. Esta foi determinada espectrofotometricamente pela medida da conversão do guaiacol em tetraguaiacol a 470 nm (LUSSO & PASCHOLATI, 1999). Os resultados foram expressos em unidades de absorbância a 470 nm min⁻¹ mg proteína⁻¹.

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições sendo cada repetição composta por quatro plântulas. Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância e teste de Tukey a 5% de probabilidade com auxílio do programa Sisvar.

Resultados e Discussão

O extrato aquoso, quando em duas aplicações em cotilédones de pepino promoveu redução significativa na severidade da antracnose com relação a apenas uma aplicação. Esta redução na severidade da doença foi semelhante à obtida pelo produto comercial ASM aplicado três dias antes da inoculação. Para a enzima peroxidase, não houve diferença entre o número de aplicações, mas novamente duas aplicações permitiram resultados semelhantes ao ASM (Figura 1).

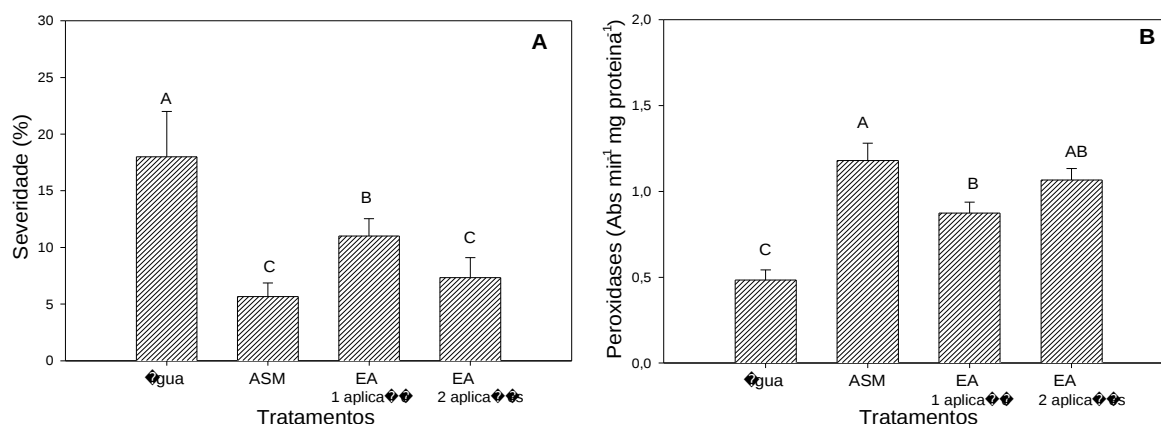


Figura 1. Severidade da antracnose (A) e atividade de peroxidases (B) em cotilédones de pepino tratados uma vez ou duas vezes (3 dias ou 3 e 6 dias antes da inoculação ou coleta de amostras, respectivamente) com extrato aquoso (EA) (20%) de *C. citriodora*. Testemunhas: água destilada e acibenzolar-S-metil (ASM) (50 mg i.a. L⁻¹). Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em feijoeiro, não houve diferença significativa entre o número de aplicações do EA. Na severidade do crestamento bacteriano, apenas ASM reduziu significativamente os sintomas da doença em relação à testemunha água. No entanto, para peroxidases, tanto ASM quanto o EA, em uma ou duas aplicações, induziram aumento na atividade enzimática, não diferindo entre si (Figura 2).

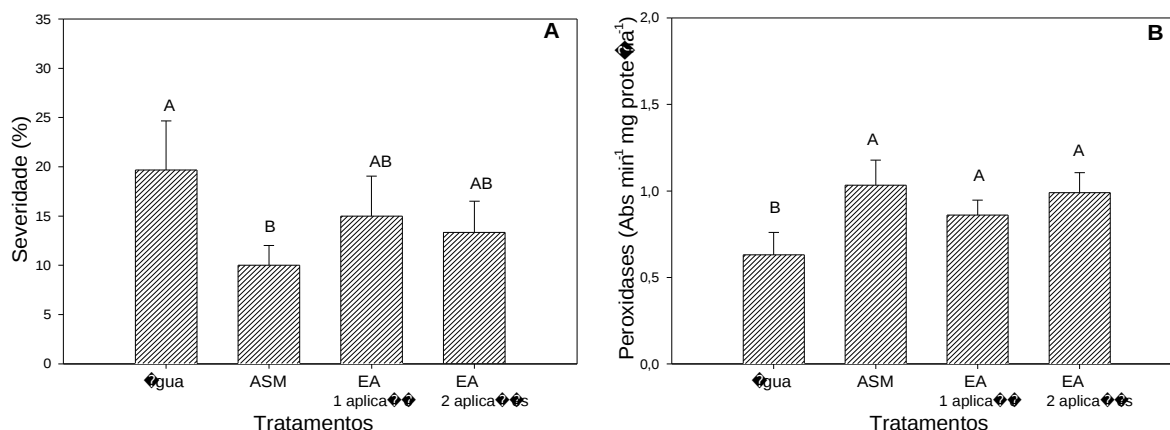


Figura 2. Severidade do crestamento bacteriano (A) e atividade de peroxidases (B) em plântulas de feijoeiro tratados uma vez ou duas vezes (3 dias ou 3 e 6 dias antes da inoculação ou coleta de amostras, respectivamente) com extrato aquoso (EA) (20%) de *C. citriodora*. Testemunhas: água destilada e acibenzolar-S-metil (ASM) (50 mg i.a. L⁻¹). Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O fato de o número de aplicações não ter induzido significativo aumento na atividade de peroxidases, é possível que duas aplicações possam ter contribuído no controle por permitir maior acúmulo de compostos antifúngicos na superfície da planta, mas que uma aplicação é suficiente para induzir mecanismos de defesa na planta. Estudos sobre o efeito do número de aplicações do extrato de plantas são escassos. No entanto, Bonaldo *et al.*, (2004) já haviam relatado o potencial de *C. citriodora* como potencial agente no controle de doenças em plantas.

A capacidade do extrato aquoso em ativar a enzima de defesa peroxidase tanto em pepino como em feijão representa informação muito importante do mecanismo de ação do extrato, pois pode estar desencadeando mecanismos de resistência da planta, sem especificidade. Segundo Pascholati e Leite (1995), a não especificidade da resistência induzida em plantas é refletida não somente pelos diferentes indutores, mas também no amplo espectro de fitopatógenos contra os quais a planta é protegida.

Embora os resultados no controle do crestamento bacteriano não tenham sido tão expressivos, essas informações são muito importantes, pois essa doença se destaca entre as principais da cultura e seu controle é muito difícil. Deve-se considerar ainda que práticas preventivas no manejo agroecológico são fundamentais para saúde das plantas.

Os resultados obtidos mostram o potencial de emprego do extrato aquoso de *C. citriodora* como alternativa no controle da antracnose em pepino e do crestamento bacteriano em feijão e possivelmente envolva a indução de resistência pela ativação de enzimas de defesa da planta.

Bibliografica Citada

- BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.P.G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H. et al. (Eds) **Manual de Fitopatologia – Doenças das Plantas Cultivadas**. São Paulo: Ceres, 2005. Cap.37, p.333-349.
- BONALDO, S.M. et al. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium* pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, p.128-134, 2004.
- BURG, I.C.; MAYER, P.H. **Alternativas ecológicas para prevenção e controle de pragas e doenças**. 30 ed. Francisco Beltrão: Grafit Gráfica e Editora Ltda. 2006, 153p.
- KUROZAWA, C.; PAVAN, M.A.; REZENDE, J.A.M. Doenças das cucurbitáceas. In: KIMATI, H. et al. (Ed) **Manual de Fitopatologia – Doenças das Plantas Cultivadas**. São Paulo: Ceres, 2005. Cap.32, p.293-302.
- LUSSO, M.F.G.; PASCHOLATI, S.F. Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in maize tissues after mechanical injury or fungal inoculation. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.25, p.244-249, 1999.
- PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A. et al. (Ed.). **Manual de Fitopatologia – Princípios e Conceitos**. São Paulo: Ceres, 1995. v.1. cap.22, p.417-454.
- STANGARLIN, J.R. et al. Plantas Medicinais: plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.11, p. 16-21. 1999.