

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

PAULA CRISTINA DA SILVA SOUZA

AZOXISTROBINA E EXTRATOS VEGETAIS NO MANEJO *IN VITRO* DE
CERCOSPORA BETICOLA

TAUBATÉ-SP

2024

PAULA CRISTINA DA SILVA SOUZA

AZOXISTROBINA E EXTRATOS VEGETAIS NO MANEJO *IN VITRO* DE
CERCOSPORA BETICOLA

Artigo apresentado ao curso de Pós-Graduação Lato Sensu em Fitossanidade, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Especialista em Fitossanidade.

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Aline
Vanessa Sauer Zawadzki

TAUBATÉ-SP

2024

Azoxistrobina e extratos vegetais no manejo *in vitro* de *Cercospora beticola*

Paula Cristina da Silva Souza

RESUMO

O fungo *Cercospora beticola*, popularmente conhecido como cercosporiose, é a principal doença na cultura da beterraba. O manejo majoritariamente é realizado com fungicidas químicos, entretanto, formas mais sustentáveis para controle são procuradas. Os extratos vegetais de plantas com potencial fungistático são alternativas ecologicamente viáveis para pequenos e médios produtores. Objetivou-se verificar o nível de controle de *C. beticola* com a aplicação do fungicida azoxistrobina (estrobilurinas) e aplicação de extratos vegetais de laranja, alho, girassol mexicano e hortelã, na cultura da beterraba. O experimento foi conduzido em Laboratório na Universidade de Marília - UNIMAR, São Paulo. Foram obtidos isolados de folhas infectadas, onde realizou-se a desinfecção destas, e com auxílio de microscópio óptico, realizou-se isolamentos monospóricos para placas de Petri, conferindo a presença de apenas um conídio por placa. Os extratos vegetais foram extraídos a partir das partes vegetativas das plantas, triturando 30g em liquidificador com 120 mL de água destilada. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, seis tratamentos e quatro repetições, totalizando 24 parcelas. Os tratamentos foram: testemunha; 20 µL de extrato de laranja; 20 µL de extrato de alho; 20 µL de extrato de girassol mexicano; 20 µL de extrato de hortelã; e, fungicida, dose de campo do produto, 96g/600L. A aplicação do fungicida proporcionou redução do crescimento micelial de 84,5% diferindo dos demais tratamentos. Os extratos de laranja, alho, hortelã e girassol mexicano não apresentaram eficácia no controle do fitopatógeno em condições laboratoriais. Sugere-se assim, continuar as pesquisas, buscando estratégias ecologicamente para otimização ao uso de defensivos agrícolas.

Palavras-chave: Beterraba; Cercosporiose; Mancha de cercospora; Manejo integrado de doenças; Manejo sustentável.

ABSTRACT

The fungus *Cercospora beticola*, popularly known as cercosporiosis, is the main disease in beet crops. Management is mostly carried out with chemical fungicides, however, more sustainable forms of control are sought. Vegetable extracts from plants with fungistatic potential are ecologically viable alternatives for small and medium-sized producers. The objective was to verify the level of control of *C. beticola* with the application of the fungicide azoxystrobin (strobilurins) and application of vegetable extracts of orange, garlic, Mexican sunflower and mint, in the beet crop. The experiment was conducted in the Laboratory at the University of Marília - UNIMAR, São Paulo. Isolates were obtained from infected leaves, where they were disinfected, and with the aid of an optical microscope, monosporic isolations were carried out in Petri dishes, checking the presence of only one conidia per plate. The plant extracts were extracted from the vegetative parts of the plants, grinding 30g in a blender with 120 mL of distilled water. The experimental design was completely randomized, six treatments and four replications, totaling 24 plots. The treatments were: control; 20 µL of orange extract; 20 µL of garlic extract; 20 µL of Mexican sunflower extract; 20 µL of mint extract; and, fungicide, field dose of the product, 96g/600L. The application of the fungicide provided a reduction in mycelial growth of 84.5%, differing from the other treatments. Orange, garlic, mint and Mexican sunflower extracts were not effective in controlling the phytopathogen under laboratory conditions. It is therefore suggested to continue research, seeking ecologically sound strategies to optimize the use of agricultural pesticides.

Keywords: Beetroot; Cercosporiosis; *Cercospora* spot; Integrated disease management; Sustainable management.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	6
2 OBJETIVO	7
3 MATERIAL E MÉTODOS	8
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	9
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	11
REFERÊNCIAS	11

1 INTRODUÇÃO

A beterraba (*Beta vulgaris* L.), originária das regiões Mediterrâneas e do Norte da África, apresenta cultivo de ampla distribuição geográfica e altamente rentável em vários países. Pertence à família Chenopodiaceae, sua comercialização está principalmente voltada para a produção de açúcar e forragem (PITNNER et al., 2016). As regiões do Sudeste e Sul brasileiro são responsáveis por 77% da produção nacional. Tal hortaliça caracteriza-se no Brasil, pelo consumo “*in natura*” e pelo alto teor nutricional de suas raízes – tuberosas (SOUZA et al., 2015) que são ricas em ferro, e contém betacianinas, pigmento arroxeadado que confere a cor às suas raízes.

Sua produção é comumente limitada por fatores externos, dentre eles a ocorrência de patógenos. O fungo *Cercospora beticola* é o agente causador da cercosporiose, principal doença que acomete a cultura da beterraba. É um patógeno necrotrófico que causa destruição do protoplasto para obtenção dos nutrientes, é evidenciado pelo surgimento de diversas manchas circulares com halo de coloração purpúrea na face adaxial e abaxial do tecido foliar. Essas lesões aumentam e adquirem uma tonalidade cinza clara, que corresponde a uma estrutura produzida pelo fungo. Com o desenvolvimento da doença, o tecido torna-se necrosado resultando na perfuração e senescência da folha, o que reflete na área foliar fotossintética da planta e consequente redução da produção (PITNNER, 2016; MARCUZZO et al., 2015). Uma forma de reação desencadeada pela planta, é a emissão de novas folhas que possam suprir a perda das folhas velhas que sofreram o ataque. Contudo, para tal emissão, a planta faz uso das reservas da raiz, o que deprecia e reduz o rendimento comercial do tubérculo (ESPADINHA, 2007).

Temperaturas entre 22 e 26°C e umidade relativa do ar superior a 90%, proporcionam ambiente favorável para o desenvolvimento do fungo, que nestas situações, podem causar perdas que variam de 15% a 45% na produtividade (TIVELLI et al., 2011). Os fungos do gênero *Cercospora* sp. sobrevivem em restos culturais infectados. Os conídios são produzidos nas lesões das folhas, se disseminam pelo vento ou até mesmo através do sistema de irrigação (PITNNER et al., 2016).

O uso de produtos químicos caracteriza-se por ser a forma de controle mais prática, com resultados satisfatórios em pouco tempo após a utilização. Dessa forma,

fungicidas protetores e curativos registrados no Ministério da Agricultura são a principal estratégia de manejo, com destaque para o grupo dos triazóis e estrobilurinas (MAPA, 2024). Em contrapartida, tal medida de controle gera impactos ao ambiente, solo e água, devido o acúmulo residual nas camadas superficiais do solo, desequilíbrio ecológico da microbiota presente no solo, além de potencial risco ao próprio homem (VENTUROSOSO et al., 2011). Dessa forma, técnicas alternativas para o manejo estão sendo colocadas em pauta, dentre elas, o uso de plantas medicinais ou não, através de extratos que contenham substâncias capazes de inibir a atividade fúngica de patógenos de doenças (SILVA et al., 2012).

Estudos já foram realizados em relação a atividade antifúngica de plantas como calêndula, açafraão, malva, laranja, tabaco entre outras (CHALFOUN et al., 2009). Bem como, microrganismos do gênero *Alternaria*, *Colletotrichum*, *Fusarium* e *Phytophthora* já foram alvos de pesquisas, submetidos a extratos e óleos vegetais frente ao seu desenvolvimento (VENTUROSOSO et al., 2011).

Dessa forma, o trabalho tem por objetivo, o estudar o desenvolvimento de colônias de *Cercospora beticola*, na presença de fungicida sintético (estrobilurina) e de diferentes doses de extratos vegetais de laranja (*Citrus aurantium*), alho (*Allium sativum*), girassol mexicano (*Tithonia diversifolia*) e hortelã (*Mentha piperita*).

2 OBJETIVO

- Objetivo Geral

O trabalho tem por objetivo analisar o desenvolvimento de *Cercospora beticola* com a utilização do fungicida azoxistrobina e diferentes extratos vegetais para o manejo da doença na cultura da beterraba.

- Objetivos Específicos

Estudar e acompanhar o progresso de colônias de *Cercospora beticola* na presença do fungicida sintético azoxistrobina (estrobilurina) na dosagem comercial.

Analisar o desenvolvimento das colônias de *C. beticola* sob diferentes doses de extratos vegetais de laranja (*Citrus aurantium*), alho (*Allium sativum*), girassol mexicano (*Tithonia diversifolia*) e hortelã (*Mentha piperita*).

Identificar alternativas ao controle químico, e/ou associá-los como alternativa de manejo da doença para pequenos produtores.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Fitopatologia da Universidade de Marília - UNIMAR, São Paulo. Para isolamento do fungo *Cercospora beticola* foram coletadas folhas de beterraba com sintomas de cercosporiose no campo experimental da universidade. Seguindo a metodologia para isolamento descrita por Santos Filho e Carollo (2016), as folhas foram lavadas e colocadas em câmara úmida a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas. Após 48 horas, com o auxílio de um furador de metal com 6 mm de diâmetro, realizou-se a retirada das lesões em folhas que apresentavam esporulações, observadas sob estereoscópio.

As lesões foram fatiadas, colocadas em um tubo Falcon de 15 mL e agitadas em vórtex por 4 minutos. Parte do tecido lesionado foi coletado e semeado em uma placa de Petri contendo meio de cultura Ágar Sabouraud Dextrose (SDA), para a obtenção da cultura pura. As placas foram incubadas em câmara do tipo BOD, à 24°C. Após a obtenção de colônias, realizou-se os isolamentos monospóricos para placas de Petri contendo o mesmo meio SDA. Em seguida, realizou-se a conferência no microscópio estereoscópio, se havia sido transferido um único conídio para cada placa. Após o crescimento micelial, foram aplicados os extratos vegetais e fungicida, por meio do auxílio de uma micropipeta. Para o preparo dos extratos realizou-se a coleta das partes vegetativas das plantas, sendo 30 g triturados em liquidificador com 120 mL de água destilada. Depois de prontos, os extratos foram armazenados em tubo tipo falcon, por aproximadamente três horas em refrigeração até o momento de uso.

A avaliação do crescimento micelial foi realizada de acordo com a metodologia descrita por VENTUROSO, 2011,. Mensurou-se o diâmetro das colônias em dois eixos e obteve-se a média entre as medidas. Para a porcentagem de inibição do crescimento (PIC) utilizou-se a fórmula: $PIC = [(diâmetro da testemunha - diâmetro do$

tratamento)/diâmetro da testemunha] x 100, para cada extrato estudado e para o fungicida. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e quatro repetições, totalizando 24 parcelas. Cada parcela constituiu-se em uma placa de Petri com um fragmento central. Os tratamentos foram constituídos de: T1 como testemunha, constando apenas do meio SDA, T2: 20 µL de extrato de laranja, T3: 20 µL de extrato de alho, T4: 20 µL de extrato de girassol mexicano, T5: 20 µL de extrato de hortelã e T6: fungicida azoxistrobina em dose comercial recomendada para a cultura (100 g p.c/ha). Os dados obtidos foram interpretados estatisticamente por meio de análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento que recebeu o fungicida azoxistrobina em dose comercial apresentou redução do crescimento micelial de 84,5% diferindo-se dos demais tratamentos ($p < 0,05$) (Figura 1). A eficácia do fungicida corrobora os estudos de Chalfoun et al. (2009), no qual a mesma molécula química proporcionou redução micelial do fungo pertencente ao mesmo gênero *Cercospora*, utilizando-se a dosagem recomendada pelo fabricante (100 g p.c/ha).

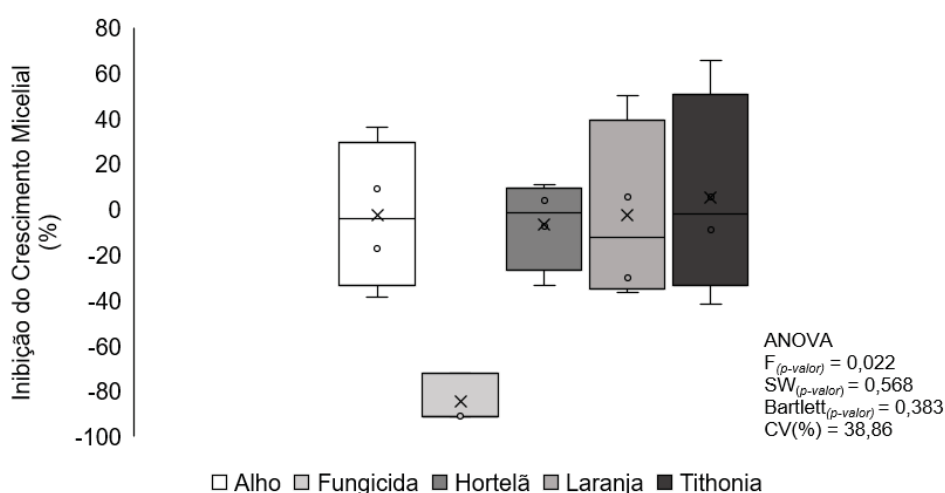


Figura 1. Parâmetros da análise de variância e gráficos boxplot da porcentagem de inibição do crescimento (P.I.C.) *in vitro* de *C. beticola* perante aplicação extrato de laranja, extrato de alho, extrato de girassol mexicano, extrato de hortelã e fungicida azoxistrobina em dose comercial.

Não foram observadas diferenças significativas sobre as placas contendo *C. beticola* que receberam os extratos das diferentes espécies vegetais. Foram obtidos os valores médios de PIC de $-6,37\% \pm 19,49\%$ para o extrato de hortelã, $-2,65\% \pm 32,45\%$ para o extrato de alho, $-2,52\% \pm 39,79\%$ para o extrato de laranja e $5,08\% \pm 45,03\%$ para o extrato de girassol mexicano. Além disso, observou-se na Figura 1 que os valores de PIC para estes tratamentos apresentaram grande variação, com valores positivos e negativos, resultando em valores médios próximos a zero, o que indica a ausência de diferença em relação ao tratamento testemunha. Desta forma, nas doses avaliadas os extratos não apresentaram efeito fungicida para o controle da *Cercospora* em condições de laboratório. Chalfoun et al. (2009) observaram uma melhor performance do extrato de laranja na atividade antifúngica para *Cercospora coffeicola*, com 36,3% de redução do crescimento micelial, quando comparado aos outros extratos testados (alho, hortelã, babosa, açafrão), utilizando a dosagem de 10 μ L.

Venturoso et al. (2011) trabalhando com o fungo *Cercospora kikuchii* observaram que a aplicação do extrato de alho na concentração de 9,7% proporcionou controle efetivo sobre o patógeno em condições laboratoriais. Silva et al. (2012) estudando *Colletotrichum gloeosporioides* também identificaram inibição do crescimento micelial pela atividade antifúngica do alho, sendo de 86,90% de redução do crescimento micelial. Bastos et al. (2019) utilizando a dosagem de 10 μ L constataram controle potencial de *Tithonia diversifolia*, inibindo o crescimento de *Rhizoctonia solani* em condições laboratoriais. Por outro lado, Venturoso et al. (2011), não observaram resultados satisfatórios frente a utilização do extrato de hortelã no controle de *Phomopsis* sp., utilizando 20 g do material vegetal triturados em 100 mL de água. Chalfoun et al. (2009) também não observaram influência sobre o crescimento micelial de *C. coffeicola* utilizando o mesmo extrato a 10 μ L.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os extratos vegetais de laranja, alho, hortelã e girassol mexicano não apresentaram eficácia no controle do fitopatógeno estudado (*Cercospora beticola*) em condições de laboratório.

No entanto, devido ao efeito promissor dos mesmos frente a outros fitopatógenos, sugere-se a continuidade das atividades de pesquisas por meio da alteração das concentrações dos extratos. Acredita-se que a busca por estratégias que visem diminuir o uso de defensivos agrícolas contribui diretamente para a sustentabilidade da agricultura, além de ser uma estratégia rentável para pequenos produtores.

REFERÊNCIAS

C.; MACIEL, W.; CARVALHO, D.A.; Seleção de extratos vegetais para controle da cercosporiose do cefeeiro. **VI Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, 2009.

MARCUZZO, L.L.; DUARTE, T.S.; FERNANDES, J.M.C.; HILLESHEIN, P.C.; SCHEIDT, B.T.; Progresso temporal da cercosporiose da beterraba em diferentes genótipos e épocas de na primavera. **Summa Phytopathol**, v. 41, n.3, p. 219-223, 2015.

MARCUZZO, L.L.; DUARTE, T.S.; ROSA NETO, A.J.; COSTA, M.E.B.; Ineficácia de arranjos espaciais no controle da cercosporiose (*Cercospora beticola*) da beterraba. **Summa Phytopathol**, v. 41, n. 4, p. 322-323, 2015.

PITTNER, E.; PIVA, R.; SANTOS, J.C.; SANTOS, L.A.; FARIA, C.M.D.R.; Análise do desenvolvimento de *Cercospora beticola* frente ao fungicida tebuconazol. **Applied Research & Agrotechnology**, v. 9, n. 3, set - dec, 2016.

SILVA, J.L.; TEIXEIRA, R.N.V.; SANTOS, D.I.P.; PESSOA, J.O.; Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o crescimento *in vitro* de fitopatógenos. **Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável**, v. 7, n. 1, p. 80-86, jan - mar, 2012.

SOUZA, A.D.; ROGGIERO, T.U.; FURLAN, M. R.; AOYAMA, E.M.; Óleo de melaleuca (*Melaleuca alternifolia* Maiden & Betche, Cheel) no controle de cercosporiose em beterraba. **Ver. Bras. Pl. Med**, v. 17, n. 4, p. 1078-1082, 2015.

TIVELLI, S.W.; FACTOR, T.L.; TERAMOTO, J.R.S.; FABRI, E.G.; MORAES, A.R.A.; TRANI, P.E.; MAY, A.; Beterraba: Do plantio à comercialização. **Instituto Agrônômico (IAC)**, n. 210, 2011.

VENTUROSOS, L.R.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L., CONUS, L.A.; PONTIM, B.C.A.; BERGAMIN, A.C.; Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathol**, v. 37, n. 1, p. 18-23, 2011.

VENTUROSOS, L.R.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L., CONUS, L.A.; PONTIM, B.C.A.; SOUZA, F.R.; Inibição do crescimento *in vitro* de fitopatógenos sob diferentes concentrações de extratos de plantas medicinais. **Arq. Inst. Biol**, v.78, n.1, p. 89-95, jan - mar, 2011.