



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
ESCOLA SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS DA AMAZÔNIA**

PAULA MARA RODRIGUES VALENTE

POTENCIAL FUNGICIDA DE EXTRATO FOLIAR DE *Caryocar villosum* (AUBL.) PERS (CARYOCARACEAE)

ORIENTADORA: VERIDIANA VIZONI SCUDELLER, DRA.

CO-ORIENTADORA: ADEMIR CASTRO E SILVA, DR.

**MANAUS
MARÇO – 2012**

PAULA MARA RODRIGUES VALENTE

POTENCIAL FUNGICIDA DE EXTRATO FOLIAR DE *Caryocar villosum* (AUBL.) PERS (CARYOCARACEAE)

ORIENTADORA: VERIDIANA VIZONI SCUDELLER, DRA.

CO-ORIENTADORA: ADEMIR CASTRO E SILVA, DR.

Dissertação apresentada à Coordenação do Curso de Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia da Universidade do Estado do Amazonas – UEA, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia e Recursos Naturais.

**MANAUS
MARÇO – 2012**

FICHA CATALOGRÁFICA

Catálogo na fonte pela Biblioteca Central da Universidade Estadual do Amazonas

V154p Valente, Paula Mara Rodrigues
Potencial fungicida de extrato foliar de Caryocar Villosum (AUBL.)
Pers (Caryocaraceae). / Paula Mara Rodrigues Valente. –
Manaus:UEA, 2012.
x, 87p., 29cm.

Orientador: Prof^a. Dra. Veridiana Vizoni Scudeller.

Co-Orientador: Prof^o. Dr. Ademir Castro da Silva.

Dissertação– Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais
- Universidade do Estado do Amazonas- UEA/ Escola Superior de
Ciências da Saúde.

1. Fungo 2. Caryocar villosum (Aubl) Pers - espécie 3. Fusarium
sp. – espécie I. Scudeller, Veridiana Vizoni II. Silva, Ademir Castro da.
III Universidade do Estado do Amazonas IV. Escola Superior de
Ciências da Saúde. V. Título.

CDU – 582.28

PARECER

Os membros da Banca Examinadora, designada pela Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Universidade do Estado do Amazonas, reuniram-se para realizar a arguição da dissertação de MESTRADO apresentada pela candidata Paula Mara Rodrigues Valente sob o título “Potencial fungicida de extrato foliar de *Caryocar villosum* (Aubl.) Pers (Caryocaraceae)”, para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia e Recursos Naturais.

Após análise do referido trabalho e arguição da candidata, os membros dão o parecer pela **APROVAÇÃO** da dissertação.

Manaus, 29 de março de 2012.

Dr. Jeferson da Cruz

Universidade Federal do Amazonas (UFAM) – Membro Titular

Dr. Enrique Molina Pérez

Universidade Estadual do Amazonas (UEA) – Membro Titular

Dra. Veridiana Vizoni Scudeller

Universidade Estadual do Amazonas (UEA) – Presidente da Banca e Orientadora

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todas as pessoas que incentivaram e deram apoio para enfrentar e superar as dificuldades encontradas na minha vida:

Aos meus pais, Benedito (in memória) e Maria do Carmo, pelo amor e dedicação;

Ao meu esposo, Elias, pelo amor e companheirismo;

A minha filha, Elisy, pelo carinho e alegria;

AGRADECIMENTOS

A Deus por me presentear com o dom da vida, da saúde, e por fortalecer-me com as virtudes da perseverança, esperança e fé, que subsidiaram e motivaram para a conclusão dessa jornada.

A toda minha família, por terem me apoiado e incentivado nesta jornada acadêmica.

A professora orientadora Veridiana Vizoni Scudeller e co-orientador Ademir Castro e Silva por todos os ensinamentos passados, pelos laços de amizade formados, atenção e confiança dedicado ao longo do trabalho.

Aos amigos da UEA, Erleson, Ricardo, Max, Aldenize, Patrícia, Veranilce e Priscila pela troca de experiência e conhecimento, pelos momentos de descontração vividos nas longas horas de trabalho e pelo apoio dado nos momentos mais difíceis.

A todos os colegas do Curso de Mestrado, Elaine, Adriana, Vanessa, Aaron, Ádria e Izabel por tudo que passamos juntos e pelas amizades cultivadas.

As amigas Andreina do Laboratório Pena Ribeiro e Joice do laboratório da UEA pelo suporte técnico.

A todos os professores do curso, por ter despertado em cada um de nós novos conhecimentos e nos mostrado o melhor caminho profissional a seguir.

À FAPEAM pelo incentivo educacional e bolsa de estudos concedida.

À Universidade do Estado do Amazonas, em especial ao programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais pela oportunidade da realização deste trabalho.

Ao projeto bioprospecção de espécies nativas da Amazônia central: controle biológico, plantas medicinais e comestíveis pelo investimento na pesquisa(CNPQ CT-Amazônia 553373/2005-6) e Biodiversidade, ecofisiologia, biotecnologia e uso sustentável dos biomas Cerrado e Amazônia (CAPES/PNADB 518/2012).

Ao Centro de Estudos Superiores de Parintins-CESP por ter dado suporte laboratorial, docente e administrativo para a minha formação.

Aos Professores da Universidade Federal do Amazonas – UFAM, Dr. Pedro Queiroz do Laboratório de Genética de Microrganismos, na identificação do fungo e ao Professor Msc Roberto Luis no suporte da análise estatística.

A todos que contribuíram direta e indiretamente em minha jornada acadêmica.

*“Não tenho um caminho novo. O que eu
tenho de novo é um jeito de caminhar.”
(Thiago de Melo)*

RESUMO

POTENCIAL FUNGICIDA DE EXTRATO FOLIAR DE *Caryocar villosum* (AUBL.) PERS (CARYOCARACEAE)

VALENTE, Paula Mara Rodrigues¹(maraflower@yahoo.com.br); SCUDELLER, Veridiana Vizoni¹; CASTRO E SILVA, Ademir ¹

¹ Universidade Estadual do Amazonas, Centro de Estudos Superiores de Parintins – CESP/AM

A utilização de fungicidas é, em muitos casos, a única medida eficiente e viável de controlar doenças e garantir a sustentabilidade da atividade agrícola. Por outro lado, é também uma tecnologia que traz impactos negativos ao ambiente e à saúde pública. O fungo *Fusarium* sp. causa graves prejuízos às culturas de hortaliças no município de Parintins - Am. É considerado como patógeno de solo, capaz de provocar danos severos a diversas espécies agrícolas de importância econômica. Neste contexto, a espécie *Caryocar villosum* (piquiá) aparece como possibilidade promissora, pois estudos preliminares revelam a existência de substâncias com ação fungicida e/ou fungistática. O presente trabalho teve como objetivo a obtenção de extratos brutos etanólico, metanólico e aquoso das folhas de *C. villosum*, e analisar sua atividade sobre o fungo *Fusarium* sp., utilizando dois meios de extração, quente e frio. A partir de folhas de alface necrosadas foi feito o isolamento de *Fusarium* sp., que foi cultivado em meio BDA. Foram avaliados os efeitos dos extratos sobre o crescimento micelial, nas concentrações 1g/L, 5g/L, 10g/L e 15g/L medindo-se o diâmetro das colônias do fungo durante sete dias. Para a contagem utilizou-se dez discos de papel celofane de 0,8 cm de diâmetro, que foram colocados em placa de petri sobre três discos de papel filtro embebidos em solução de extratos nas concentrações 1g/L, 5g/L, 10g/L e 15g/L, em triplicata. Nas concentrações de 10 e 15g/L do extrato etanólico quente, foram observadas inibições significativas no crescimento micelial da espécie fúngica. Nas concentrações 5, 10 e 15 g/L do extrato etanólico e aquoso quente foram observadas inibições significativas na germinação dos conídios do *Fusarium* realizada a partir das 16h de incubação.

Palavras-chave: *Caryocar villosum*, ação fungicida, *Fusarium* sp.

ABSTRACT

FUNGICIDE POTENTIAL OF LEAF EXTRACT *Caryocar villosum* (Aubl.) PERS (Caryocaraceae)

VALENTE, Paula Mara Rodrigues¹ (maraflower@yahoo.com.br); SCUDELLER, Veridiana Vizoni¹; CASTRO E SILVA, Ademir¹

¹ University of Amazonas, Centre for Advanced Studies in Parintins - CESP / AM.

The use of fungicides is in many cases the only viable and effective measure to control diseases and ensure the sustainability of agriculture. On the other hand, it is also a technology that brings negative impacts to the environment and public health. The fungus *Fusarium* sp. cause severe damage to crops of vegetables in the city of Parintins - Am is considered soil pathogen capable of causing severe damage to many economically important agricultural species. In this context, the species *Caryocar villosum* (piquiá) appears as a promising possibility because preliminary studies reveal the existence of substances with fungicidal and / or fungistatic. This study aimed to obtain crude extracts ethanol, methanol and aqueous leaves *C. villosum*, and analyze their activity on the fungus *Fusarium* sp. Using two modes of extraction, hot and cold. From leaves of lettuce necrotic been made to isolate *Fusarium* sp. Which was cultivated in BDA. Foram The effects of the extracts on o crescimento mycelial concentrations 1g / L, 5g / L, 10g / L and 15g / L measuring the diameter of fungal colonies for seven days. For counting was used ten cellophane disks of 0.8 cm in diameter which were placed in petri dishes on three discs of filter paper soaked in solution at concentrations of extracts 1g / L, 5g / L, 10g / L and 15g / L in triplicate. At concentrations of 10 and 15g / L of ethanol extract hot, significant inhibitions were observed in mycelial growth of the fungus. Concentrations 5, 10 and 15 g / L of hot aqueous ethanol extract and significant inhibitions were observed on conidial germination of *Fusarium* held from 16h incubation.

Key words: *Caryocar villosum*, a fungicide, *Fusarium* sp.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Diagrama esquemático que representa as etapas desenvolvidas para confecção desta dissertação	19
Figura 2: A. M- macroconídios; F- fiálides e E- esporodóquio; B. conídios	24
Figura 3: <i>Fusarium</i> sp. A. alface necrosada; B. conídios de <i>Fusarium</i> sp; C. e D. teste de patogenicidade- 7 dias após inoculação	30
Figura 4: A- coloração branca e rosa; B- textura cotonosa com coloração rosa	31
Figura 5: Área do assentamento Vila Amazônia em relação ao Estado do Amazonas e município de Parintins onde se realizaram a coleta	41
Figura 6: Extrator soxhlet	42
Figura 7: Árvore de piquiá (<i>Caryocar villosum</i>) A. B. estrutura florística. C. estrutura foliar e D. frutos de piquiá.....	45
Figura 8: Gráfico de rendimento para extrato foliar de <i>Caryocar villosum</i> obtidos através de Soxhlet e a temperatura ambiente	49
Figura 9: Crescimento micelial de <i>Fusarium</i> sp. em diferentes concentrações do extrato etanólico de <i>Caryocar villosum</i>	62
Figura 10: Crescimento micelial de <i>Fusarium</i> sp em diferentes concentrações do extrato metanólico de <i>Caryocar villosum</i>	64
Figura 11: Crescimento micelial de <i>Fusarium</i> sp. em diferentes concentrações do extrato aquoso de <i>Caryocar villosum</i>	65
Figura 12: Inibição <i>in vitro</i> da germinação (%) de <i>Fusarium</i> sp. em diferentes concentrações em presença extrato quente e frio de <i>Caryocar villosum</i>	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Ocorrência de algumas espécies de <i>Fusarium</i> de acordo com a sua forma de adaptação a diferentes ambientes climáticos.....	26
Tabela 02 - Isolados que se desenvolveram em meio BDA	31
Tabela 03 - Classes de compostos fenólicos em plantas	47
Tabela 04 - Rendimento do extrato bruto das folhas de <i>Caryocar villosum</i> por percolação à temperatura ambiente em Soxhlet à temperatura de ebulição de cada solvente orgânico	48
Tabela 05 - Solubilidade dos extratos etanólico (EE), extrato metanólico (EM) e extrato aquoso (EA)	61
Tabela 06 - Crescimento micelial (diâmetro médio em cm e porcentagem de inibição em relação a testemunha) de <i>Fusarium</i> sp., em meios quente e frio e em placas de petri de 9 cm de diâmetro, contendo meio de cultura BDA + extrato etanólico em diferentes concentrações	62
Tabela 07 - Crescimento micelial (diâmetro médio em cm e porcentagem de inibição em relação à testemunha) de <i>Fusarium</i> sp., em meios quente e frio e em placas de petri de 9 cm de diâmetro, contendo meio de cultura BDA + extrato metanólico em diferentes concentrações	63
Tabela 08 - Crescimento micelial (diâmetro médio em cm e porcentagem de inibição em relação à testemunha) de <i>Fusarium</i> sp., em meios quente e frio e em placas de petri de 9 cm de diâmetro, contendo meio de cultura BDA + extrato aquoso em diferentes concentrações	64
Tabela 09 - Porcentagem de inibição de germinação dos conídios de <i>Fusarium sp</i> com diferentes concentrações do extrato etanólico	66
Tabela 10 - Porcentagem de inibição de germinação dos conídios de <i>Fusarium sp</i> com diferentes concentrações do extrato metanólico	67
Tabela 11 - Porcentagem de inibição de germinação dos conídios de <i>Fusarium sp</i> com diferentes concentrações do extrato aquoso.....	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- **CETAP** - Centro de Tecnologias Alternativas Populares
- **PFNM's** - Produtos Florestais não Madeireiros
- **EMBRAPA** - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
- **INPA** - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
- **UFAM** - Universidade Federal do Amazonas
- **UEA** - Universidade Estadual do Amazonas
- **M** - Metro
- **ca**—Circunferência
- **Cm** – Centímetro
- **Diam**— diâmetro
- **Pi** - Peso inicial
- **Pf** - Peso final
- **Me**: Massa esperada
- **BDA** - Batata dextrose ágar
- **BOD** – Demanda bioquímica de oxigênio
- **PIC** - Porcentagem de inibição do crescimento
- **D_c**- Diâmetro da colônia na placa controle
- **D_t**-Diâmetro da colônia na placa teste
- **ml**— Mililitros
- **rpm** – Rotações por minuto
- **g** – grama
- **L** – litro
- **EE** - Extrato etanólico
- **EM** - Extrato metanólico
- **EA** - Extrato aquoso
- **COOTEMPA** - Cooperativa dos técnicos e multiprofissionais em agropecuária

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	15
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.....	20
2. OBJETIVOS	22
Geral	
Específico	
CAPITULO 1:ISOLAMENTO DE <i>Fusarium</i> sp. A PARTIR DAS FOLHAS DE ALFACE (<i>Lactuca sativa</i> L.)	23
RESUMO	23
ABSTRACT	24
1. INTRODUÇÃO	25
2. MATERIAIS E MÉTODOS	28
2.1. ISOLAMENTO DO PATÓGENO	28
2.2. PRODUÇÃO DE INÓCULOS DOS FUNGOS FITOPATOGÊNICOS.....	29
2.3. TESTE DE PATOGENICIDADE	30
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
CONCLUSÃO	33
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.....	34
CAPÍTULO 2:RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO A QUENTE E A FRIO DAS FOLHAS DE <i>Caryocar villosum</i> (AUBL.) PERS.....	37
RESUMO.....	37
ABSTRACT.....	38
1. INTRODUÇÃO	39
2. MATERIAIS MÉTODOS.....	41
2.1 ÁREA DE ESTUDO.....	41
2.2 MATERIAL VEGETAL	41
2.3 OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO	42
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
CONCLUSÃO	50
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
CAPÍTULO 3: AÇÃO “IN VITRO” DE EXTRATO FOLIAR DE <i>Caryocar villosum</i> (CARYOCARACEAE) SOBRE <i>Fusarium</i> sp.....	55
RESUMO.....	55
ABSTRACT.....	56
1. INTRODUÇÃO	57

2. MATERIAIS E MÉTODOS	58
2.1. EXTRATOS VEGETAIS	58
2.2. DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE EXTRATO SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL DO FUNGO	59
2.3. DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE EXTRATO FOLIAR SOBRE A GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS	60
2.4. SOLUBILIDADE DOS EXTRATOS	60
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
3.1. EFEITO DE EXTRATO VEGETAL SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL DO FUNGO <i>Fusarium</i> sp.....	61
3.2. EFEITO DO EXTRATO VEGETAL SOBREA GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS DE <i>Fusarim</i> sp.....	65
4. CONCLUSÃO	70
CONSIDERAÇÕES FINAIS	73
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
APÊNDICES	74
ANEXO	77

1. INTRODUÇÃO GERAL

O desenvolvimento acelerado da agricultura tem levado ao aumento da necessidade do uso de pesticida. (AMARENTE JR. *et al.*, 2002). Nos últimos anos, várias alternativas foram criadas no sentido de reduzir esta necessidade. O Centro de Tecnologias Alternativas Populares (Cetap) ensina agricultores familiares do Rio Grande do Sul a substituir agrotóxicos por técnica alternativa, na prática da chamada agricultura ecológica, trocando insumos por outros menos tóxicos, como a calda de pimenta, que ajuda a espantar insetos da plantação (ANDRADE, 2006). Tem-se verificado então uma busca por defensivos alternativos, constando no processo práticas e estudos sobre a utilização de produtos vegetais, como extratos, infusos e óleos essenciais (RIBEIRO, 2008). Em decorrência dos malefícios que os pesticidas causam ao homem e à natureza torna-se imprescindível buscar medidas alternativas de controle de pragas e doenças, com o uso de produtos naturais, eficientes e de baixo impacto ambiental. A exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes no extrato bruto ou óleos essenciais de plantas pode constituir, ao lado da indução da resistência, em uma forma efetiva de controle de doenças em plantas cultivadas (DIAS, 1993). A diversidade bioquímica das plantas é tão rica quanto à dos animais. As diversas moléculas complexas terpenóides, alcalóides e compostos fenólicos são sintetizados pelo chamado metabolismo secundário das plantas e são de grande importância nas relações ecológicas inclusive planta / microrganismo fitopatogênico (HARBOURNE, 1994).

Então surge o reconhecimento do valor dos produtos florestais não madeireiros (PFNM's) como uma maneira viável para explorar a riqueza biológica de florestas tropicais sem prejudicá-la, e, ao mesmo tempo, estimular o desenvolvimento rural (FAO, 1995). Os PFNM's, como o próprio nome indica, são todos os produtos advindos da floresta que não sejam madeira, como: folhas, frutos, flores, sementes, castanhas, palmitos, raízes, bulbos, ramos, cascas, fibras, óleos essenciais, óleos fixos, látex, resinas, gomas, cipós, ervas, bambus, plantas ornamentais, fungos e produtos de origem animal (MACHADO, 2008).

A biodiversidade Amazônica rica em plantas, animais e microrganismos representa um patrimônio genético que, explorado através de técnicas biotecnológicas pode resolver problemas de saúde, alimentação, controle biológico e outros. E a biotecnologia pode ser definida como um conjunto de técnicas de manipulação de seres vivos ou parte destes para fins econômicos. Além do aumento da produtividade, a biotecnologia moderna pode contribuir para a redução dos custos de produção, para a produção de alimentos com melhor qualidade e para o desenvolvimento de práticas menos agressivas ao meio ambiente (SILVEIRA *et al.*, 2005).

O *Caryocar villosum* é uma árvore bastante encontrada na Amazônia Central, sendo conhecida regionalmente como piquiá. É membro da família Caryocaraceae que possui apenas dois gêneros: *Caryocar* e *Anthodiscus*. *Caryocar* reúne 19 espécies, sendo oito brasileiras (SANTOS, 2008).

O piquiá uma espécie comum na Amazônia, tendo seu período de floração de agosto a novembro e seus frutos iniciam a maturação a partir de setembro, podendo ser coletados de novembro até o início de maio (SILVA *et al.*, 2001). Esta espécie tem grande valor econômico e praticamente todas as partes da planta são utilizadas. As sementes são comestíveis e muito procuradas por sua polpa carnuda e aromática, considerada de alto valor nutricional, pois contêm altos teores de caroteno (pró-vitamina A), riboflavina, fósforo, ferro e cobre (ARAÚJO, 1995). O óleo retirado das amêndoas e da polpa é utilizado na manufatura de sabão doméstico e na indústria de cosméticos. As folhas, casca da árvore e polpa do fruto são ricas fontes de taninos e a madeira é resistente e durável (ARAÚJO, 1995). Os taninos são responsáveis por inúmeras atividades biológicas devido principalmente a capacidade de complexar com proteínas, polissacarídeos, alcalóides, íons metálicos e por apresentarem atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres. Estas substâncias contribuem para a defesa das plantas contra o ataque de insetos e tem sido relacionadas com inibição do crescimento de microrganismos e/ou com atividade antitumoral (HASLAM *et al.*, 1989; OKUDA *et al.*, 1989; MILA *et al.*, 1996; LEE *et al.*, 2000).

A palavra “fungicida” “stricto sensu” (do latim “caedo”=matar + “fungus”=fungo), significa tudo aquilo que é capaz de matar fungos. Dessa forma, calor, ácidos, luz ultravioleta e outros agentes físicos seriam considerados fungicidas. Entretanto, devido

ao interesse prático de seu uso no controle de doenças de plantas, o termo fungicida é utilizado de forma restrita a compostos químicos capazes de prevenir ou atenuar infecções de tecidos de plantas vivas por fungos fitopatogênicos. Dentro deste conceito, substâncias que, sem serem letais, inibem a germinação de esporos e o crescimento miceliano fungistáticas e aquelas que, permitindo o crescimento miceliano, inibem a reprodução por esporulação (anti-esporulantes), são consideradas fungicidas (AZEVEDO, 2003). Além disso, a crescente resistência de microrganismos fitopatogênicos frente aos fungicidas sintéticos usuais tem promovido e intensificado estudos que visam à descoberta de métodos alternativos de controle de doenças de planta (STANGARLIN *et al*, 1999).

Fungos em geral são organismos aclorofilados e por isso são incapazes de produzir seu próprio alimento; na sua grande maioria são aeróbios, apesar de em poucos casos se desenvolverem em lugares com baixa concentração de oxigênio ou até mesmo na ausência deste. Fungos precisam de condições favoráveis de umidade, temperatura, pH, aeração e ausência de substâncias tóxicas para o seu desenvolvimento e proliferação (GUIA DA MADEIRA, 2010).

É na Amazônia, com uma rica biodiversidade fúngica, que muitas espécies acabam encontrando condições favoráveis para o seu desenvolvimento, devido ao clima tropical. As áreas produtoras de hortaliças dessa região acabam enfrentando um combate desigual com fungos fitopatogênicos, comprometendo a produtividade. É na região do baixo Amazonas que pequenos produtores enfrentam ataques de fungos do gênero *Fusarium*, que causam a fusariose. O *Fusarium* incluem *F. oxysporum* e *F. solani*, importantes fitopatogênicos, causadores de murchas, podridões, morte de plântulas, aborto de flores, podridões de armazenamento e outras doenças. A maioria das espécies de *Fusarium* é composta por fungos habitantes de solo com distribuição cosmopolita (PUHALLA, 1981). É um gênero caracterizado pelo crescimento rápido, colônias com coloração pálida ou colorida (violeta à púrpura ou do creme à laranja), com micélio aéreo e difuso (DOMSCH *et al.*, 1980). Os sintomas em plantas infectadas podem ser observados externa e internamente. Como sintoma externo, ocorre o amarelecimento e seca progressiva das folhas. Como sintomas internos observam-se

um escurecimento vascular, mais acentuado nas partes laterais no pseudocaule de alfaces (WARUMBY *et al.*, 2004).

Na Amazônia, as unidades de produção de agricultura familiar representam 85% do total dos estabelecimentos agrícolas (TELLES, 2009). No entanto, sua contribuição para o mercado de Manaus é mínima, uma vez que a cidade importa 90% dos produtos que consome, como frutas, carnes, legumes e hortaliças (TELLES, 2009). Pesquisadores da EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), INPA (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia), UFAM (Universidade Federal do Amazonas) e UEA (Universidade Estadual do Amazonas) já desenvolvem estudos de conservação, melhoramento genético e técnicas para plantio de variedades resistentes a pragas é um solo com mais nutrientes, critérios apontados por produtores que não investem na produção agrícola (TELLES, 2009).

Sendo assim a presente dissertação avalia a eficiência de uma espécie tipicamente Amazônica, o piquiá, *Caryocar villosum*, contra um fungo patogênico, *Fusarium* sp. isolado de um cultivo de alface na região de Parintins – AM, a fim de reduzir aplicações de insumos na cultura e de melhorar a qualidade de vida dos agricultores além da rentabilidade da produção.

Dessa forma esta dissertação está dividida em quatro etapas e descrita em três capítulos - vide figura abaixo.

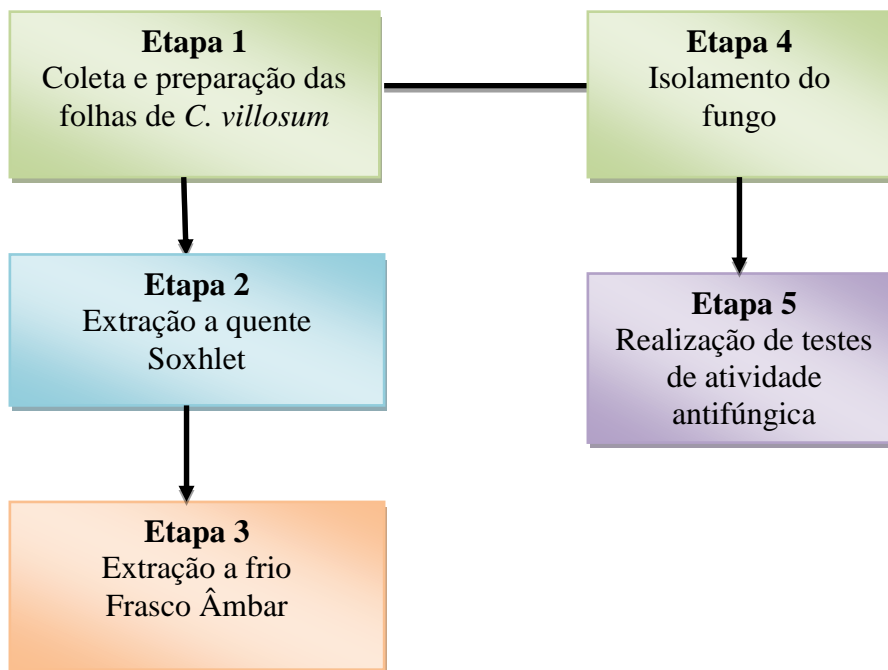


FIGURA 1: Diagrama esquemático que representa as etapas desenvolvidas para confecção desta dissertação.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ANDRADE, J. Ong ensina agricultor familiar gaúcho a substituir agrotóxicos por técnicas alternativas. **Agência Brasil**. Disponível em: <http://www.agenciabrasil.ebc.com.br>. Acesso em 18/10/2011.

ARAÚJO, F.D. A review of *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) - Na economical valuable species of the central Brazilian cerrados. **Economic Botany**, v. 49, n.1, p. 40-48, 1995.

AMARANTE Jr. O. P; SANTOS, T. C. R. Métodos de Extração e determinação do herbicida glifosato: Breve Revisão. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p.420-428, 2002.

AZEVEDO, L.A. S. **Fungicidas protetores**: fundamentos para o uso racional. Emopi Editora e Gráfica. Campinas, 2003.319p.

DIAS, F. L. **Estudo da genotoxicidade *in vivo* e *in vitro* dos cercaricidas naturais óleo de sucupira e cremantina em células de mamíferos**. Tese (Doutorado em Medicina). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, São Paulo, 1993.105 p.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. **Compendium of Soil Fungi**. New York: Academic Press, 859 p. 1980.

FAO. **Non-wood forest products for rural income and sustainable forestry**. Nonwood Forest Products 7, Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome. 1995.

GUIA DA MADEIRA. **Montana Química S.A.** Disponível em: <http://www.montana.com.br>. Acesso em 20/12/2010.

HARBOURNE, J.B. **The plant and its biochemical adaptation to the environment**. New York: Academic Press, 1994. 384p.

HASLAM, E; LILLEY, TH; CAI, Y; MARTIN, R. Mangnolato. **Planta Medica**, v.55, n.1, 1989.

LEE, MH; CHIOU, JF; YEN, KY; YANG, LL. DNA polymerase inhibition of tannins from *Eugenia uniflora*. **Cancer Letter**, v.154, p.131-136, 2000.

OKUDA, T; YOSHIDA, T; HATANO, T. **Planta Medica**. v.55, n.1, p.117, 1989.

MACHADO, F. S. **Manejo de Produtos Florestais Não Madeireiros**: um manual com sugestões para o manejo participativo em comunidades da Amazônia. Rio Branco: PESACRE e CIFOR, 2008.

MILA, I; SCALBERT, A; EXPERT, D. Iron withholding by plant polyphenols and resistance to pathogens and rots. **Phytochemistry**, New York. v. 42, p.1551-1555, 1996.

PUHALLA, J. E. Genetic considerations of the Genus *Fusarium*. In: NELSON, P. E.; TOUSSOUN, T. A.; COOK, R. J. (Ed) ***Fusarium: diseases, biology and taxonomy***. Pennsylvania: Pennsylvania State University, v. 27, p. 291-305. 1981.

RIBEIRO, V. V. **Efeitos de Fungicida e Produtos Naturais sobre o Desenvolvimento de *Fusarium oxysporum* f. sp. tracheiphilum em Sementes de Caupi**. Tese (Doutorado em Agronomia), Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Paraíba, 2008. 90 p.

SANTOS, M. S. L. Efeito da radiação gama do 60C⁰ em frutos de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb). Tese (Doutorado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura da universidade de são Paulo. Piracicaba, 2008. 71f.

SILVA, D. B.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SILVA, J. A.; PEREIRA, A. V.; SALVIANO, A.; JUNQUEIRA, G. D. Avaliação do potencial da produção do “pequizeiro-anão” sob condições naturais na região sul do Estado de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 3, p. 726-729, dez/ 2001.

SILVEIRA, J.M. F. J. BORGES, I. C. BUAINAIN, A. M. Biotecnologia e agricultura da ciência e tecnologia aos impactos da inovação. **São Paulo em Perspectiva**. v. 19, n. 2, jun/ 2005.

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.

TELLES, M. Agricultura familiar na Amazônia ganha novos horizontes. **Inovação em pauta**. n. 7, ago./set./out./ 2009.

WARUMBY, J. F.; COELHO, R. S. B.; LINS, S. R. O. **Principais doenças e pragas em flores tropicais no Estado de Pernambuco**. Sebrae, Recife, 2004, 98p.

2. OBJETIVOS

❖ Geral:

Obter extratos (etanolico, metanolico e água) das folhas do piquiá (*Caryocar villosum*) e analisar sua atividade sobre o fungo *Fusarium* sp., que ataca hortaliças de interesse econômico no município de Parintins - AM.

❖ Objetivos Específicos:

- Isolar o fungo *Fusarium* sp. em hortaliças (alface e pimentão) no município de Parintins (capítulo 1) ;
- Obter os extratos brutos a frio e a quente em etanol, metanol e água das folhas de *Caryocar villosum* coletadas em três comunidades no município de Parintins-AM (capítulo 2);e
- Verificar ação dos extratos em concentrações diferentes na amostra fúngica de *Fusarium* sp., isoladas de hortaliças (capítulo 3);

CAPÍTULO 1

ISOLAMENTO DE *Fusarium* sp. A PARTIR DAS FOLHAS DE ALFACE *Lactuca sativa* L.

VALENTE, Paula Mara Rodrigues¹(maraflower@yahoo.com.br); SCUDELLER, Veridiana Vizoni¹; CASTRO E SILVA, Ademir¹

¹ Universidade Estadual do Amazonas, Centro de Estudos Superiores de Parintins – CESP/AM

RESUMO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é hortaliça folhosa de maior importância no Brasil. São plantas de crescimento rápido, mas precisam de muita luz para crescer saudáveis e rapidamente. A drenagem do solo é importante para evitar doenças que atingem as raízes. São alvos de inúmeras pragas e uma delas esta relacionada ao solo contaminado por fungos do gênero *Fusarium*. A murcha de *Fusarium* é uma doença bastante comum, ocorrendo em praticamente todas as regiões onde se cultiva hortaliças. O *Fusarium* sp., foi encontrado em cultura de alface no município de Parintins- AM, determinada por isolamento de tecido vegetal das plantas sintomáticas em meio de cultura BDA. Foi caracterizado morfológicamente, comparando com informações da literatura e teve patogenicidade confirmada em mudas deste hospedeiro. O isolado foi identificado sendo do gênero *Fusarium* sp., tratando-se do primeiro relato deste patógeno em culturas de alface neste município.

Palavras-chave: Fusariose, alface, fitopatógenos.

ABSTRACT

ISOLATION OF *Fusarium* sp. FROM LEAVES OF LETTUCE (*Lactuca sativa* L.)

VALENTE, Paula Mara Rodrigues¹(maraflower@yahoo.com.br); SCUDELLER, Veridiana Vizoni¹, CASTRO E SILVA, Ademir ¹

¹ University of Amazonas, Centre for Advanced Studies in Parintins - CESP / AM.

Lettuce (*Lactuca sativa* L.) is the most important vegetable hardwood in Brazil. They are fast-growing plants, but need lots of light to grow healthy and fast. Soil drainage is important to prevent diseases affecting the roots. Are targets of numerous pests is one of them is related to soil contaminated by fungi of the genus *Fusarium*. The *Fusarium* wilt is a disease quite common, occurring in almost all regions where vegetables are grown. The *Fusarium* sp., Was found in lettuce crop in the city of Parintins-AM, determined by isolation of plant tissue of symptomatic plants in PDA culture medium. Was characterized morphologically compared with information from the literature and had confirmed pathogenic in this host seedlings. The identification was being *Fusarium* sp., In the case of the first report of this pathogen in lettuce crops in this county.

Key words: *Fusarium*, lettuce, plant pathogens.

1. INTRODUÇÃO

A alface é uma planta herbácea, pertencente à família das Cichoriaceae (SONNENBERG, 1985 e LISBÃO *et al.*, 1990 apud ANDRADE JUNIOR e KLAR, 1997). É a hortaliça mais importante para o mercado brasileiro (MOGHARBEL *et al.*, 2005). O consumo é restrito ao mercado nacional e, devido à perecibilidade do produto, as regiões de plantio se situam normalmente próximas ao mercado consumidor. No entanto, alface é muito suscetível ao ataque de patógenos. Um dos problemas enfrentados por produtores de alface é o ataque por fungos do solo. No município de Parintins-Am, no ano de 2009, as plantações de alface foram atacadas pelo *Fusarium*, causando grandes danos à cultura.

A fusariose é uma doença causada por fungo do gênero *Fusarium*, também conhecida por podridão do pé e podridão das raízes e causam perdas variáveis na produção de frutos, infecta mudas, plantas em desenvolvimento vegetativo causando podridão dos tecidos (MATOS *et al.*, 2005; CARNAÚBA, 2007;). O patógeno penetra via aberturas naturais ou ferimentos na superfície da planta; nos frutos a infecção se dá via flores abertas. (MATOS *et al.*, 2005).

As doenças de plantas são geralmente causadas por microrganismos que interferem no seu metabolismo, provocando uma série de processos fisiológicos prejudiciais. Esses microrganismos são chamados de patógenos ou fitopatógenos (Fungo, bactéria, vírus e nematóides).

Os fungos constituem um grupo de microrganismos eucarióticos, uni ou multicelulares, em geral multinucleados, com parede celular cujas estruturas reprodutivas apresentam uma variedade de forma, sendo distintos das estruturas somáticas. (LACAZ, 2002; PUTZKE, 2004). São organismos que não possuem pigmentos fotossintetizantes, sendo heterotrófico com nutrição por absorção. Os filamentos dos fungos são conhecidos como hifas, e ao conjunto de hifas chamamos micélio (HAVEN, 2007)

Os fungos podem ser filamentosos, constituídos por filamentos longos e ramificados denominados hifas; leveduriformes, constituídos por células individuais que se reproduzem por brotamento ou fissão binária; dimórficos, podendo ser filamentosos

ou leveduriformes dependendo das condições ambientais, principalmente temperatura (STUART *et al*, 2010).

A reprodução dos fungos pode ser tanto assexuada quanto sexuada. A fase assexuada, conhecida também como anamórfica, ou fase imperfeita, não envolve meiose, produzindo esporos gerados por mitoses (mitósporos) que podem ser dois tipos: conídios, esporângios, clamidósporos ou artrósporos (STUART *et al*, 2010).

Em todo o mundo, os fungos são os fitopatógenos mais importantes, pois eles causam a maioria das doenças de plantas que prejudicam a agricultura (KIMATI *et al*, 2005).

Os fungos do gênero *Fusarium* tem uma ampla distribuição geográfica (Tabela 3), tendo espécies cosmopolitas e outras com ocorrência restrita a determinados ambientes, ocorrendo, predominantemente, nas regiões tropicais e subtropicais ou em condições de clima frio das regiões temperadas, embora algumas espécies tenham uma íntima associação com os hospedeiros (BURGESS *et al.*, 1994).

Tabela 1. Ocorrência de algumas espécies de *Fusarium* de acordo com a sua forma de adaptação a diferentes ambientes climáticos (Burgess *et al.*, 1994).

Ocorrência Geral	Regiões de Clima	Regiões Subtropicais e
	Temperado	Tropicais
<i>F. chlamydosporum</i>	<i>F. acuminatum</i>	<i>F. beomiforme</i> ¹
<i>F. equiseti</i>	<i>F. avenaceum</i>	<i>F. compactum</i>
<i>F. moniliforme</i>	<i>F. crookwellense</i>	<i>F. decemcellulare</i> ¹
<i>F. oxysporum</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. longipes</i> ¹
<i>F. poae</i>	<i>F. graminearum</i>	
<i>F. semitectum</i>	<i>F. sambucinum</i>	
<i>F. solani</i>	<i>F. esporotrichioides</i>	
<i>F. subglutinans</i>		
<i>F. tricinctum</i>		

Fonte: Burgess *et al.*, 1994

O gênero *Fusarium*, é classificado como reino *Eumycota*, divisão *Ascomycota*, classe *Euascmycetes*, ordem *Hipocreales*, família *Hypocreaceae*(HOOG *et al.* (2000)

apud Godoy & Colombo (2004). A maioria das espécies de *Fusarium* é composta por fungos habitantes de solo com distribuição cosmopolita e ativo na decomposição de substratos celulósicos das plantas, sendo que algumas espécies são parasitas das plantas (PUHALLA, 1981). As duas principais formas de esporos são os microconídios e os macroconídios. Os microconídios são unicelulares e uninucleados; os macroconídios mais comuns são multicelulares, mas cada célula tem somente um núcleo. Todos os núcleos de um macroconídio, contudo, são descendentes mitóticos de um mesmo núcleo progenitor e são, portanto geneticamente idênticos (PUHALLA, 1981).

Fusarium sp, inicialmente pode apresentar coloração branca, tornando-se bege, marrom, rosa e violeta com textura cotonosa a lanosa. O fungo normalmente é incolor, bege, rosa ou violeta. Hifas de coloração clara, septadas, produzindo dois tipos de conidióforos e conídios. Os microconídios são ovais ou cilíndricos, pequenos, de coloração clara, sem septo, ou com um septo transversal, sendo produzidos em microconidióforos, pequenos ou grandes, retos e sem ramificações. Os macroconídios são grandes, claros, multiseptados, com forma de foice ou canoa, produzidos em macronidióforos simples, ou ramificados, produzidos geralmente em esporodóquios (PUHALLA, 1981). (Figura 6).

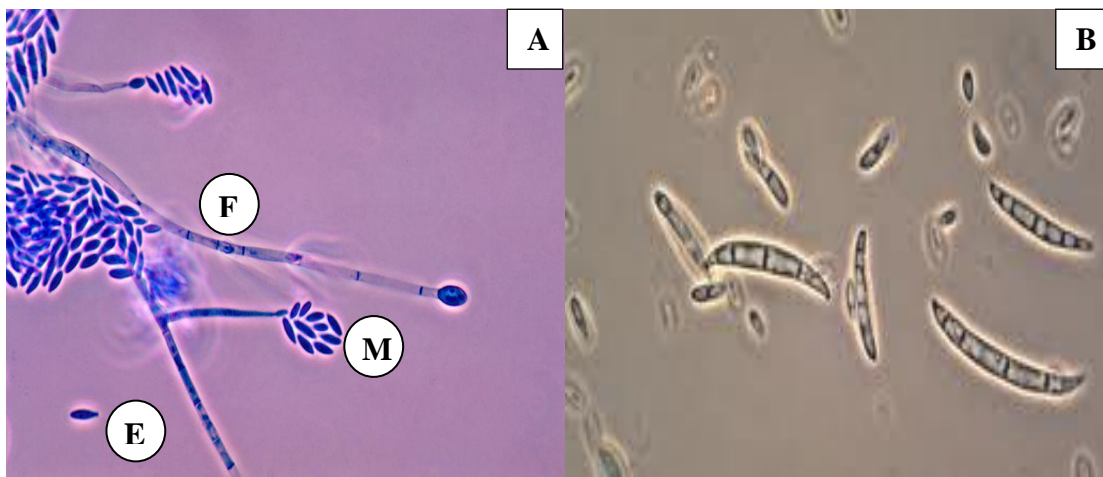


Figura 2: A: M- macroconídios; F-fiálides e E-esporodóquio; B: conídios.
Fonte: Imagem Google

No Brasil, o primeiro relato da sua incidência patogênica foi confirmado no Estado de São Paulo, em 1930, onde atacou cultura de bananeira (KIMATI & GALLI, 1980). Infecta diversas variedades de bananeira e causa prejuízos aos bananicultores, por seu grande potencial destrutivo e pela dificuldade de aplicação de medidas de controle (BORGES *et al.*, 2007).

Cordeiro (1999) afirma que a disseminação do *Fusarium* pode ocorrer pela água de irrigação ou de drenagem, animais, homem, equipamentos, material de plantio infectado e no contato de raízes saudáveis com o inóculo liberado por restos de rizomas, raízes e pseudocaules doentes.

Devido à sua característica cosmopolita, exibe uma alta variabilidade genética em nível de espécies, tornando necessária a aplicação de ferramentas que possibilitem a diferenciação entre isolados (MILANESI, 2009). Dentro desse gênero existem variações de características morfológicas, de patogenicidade e de virulência, o que resulta em uma classificação em seções, *formae specialis* e raças (OLIVEIRA & COSTA, 2002).

A dificuldade em controlar a fusariose, assim como outras doenças fúngicas, tem estimulado as pesquisas em torno de novas alternativas menos agressivas à cultura, ao homem e ao meio ambiente. (BODKER *et al.*, 1998; SANFUENTES *et al.*, 2002; CAVAGLIERI *et al.*, 2004; GARMENDIA *et al.*, 2004; SILVA & BETTIOL, 2005).

A utilização de fungicidas é, em muitos casos, a única medida eficiente e economicamente viável de garantir alta produtividade e qualidade de produção, visadas pela agricultura moderna (KIMATI, 1995).

O objetivo deste trabalho foi isolar o agente causal da podridão das raízes em hortaliças com sintomas da doença.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Isolamento do patógeno

A identificação dos fungos foi realizada no Laboratório de Genética da Universidade Federal do Amazonas – UFAM.

Amostras dos patógenos foram obtidas a partir das folhas de alface apresentando sintomas de fusariose em plantas comerciais no município de Parintins – AM. As amostras foram lavadas em água corrente para retirada de resíduos de poeira e solo. Pedacinhos de tecido foliar de 0,5mm de diâmetro foram tiradas de lesões, na região entre a área lesionada e a área sadia. Esses fragmentos foram superficialmente desinfetados com álcool 70% durante 30 segundos e hipoclorito de sódio 3,0% durante 30 segundos e enxaguados três vezes em água destilada estéril. Em seguida, estes pedacinhos de tecido foram transferidos para placas de petri contendo meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) sendo incubadas por 15 dias, sob fotoperíodo de 12h e temperatura de 25 °C, em BOD.

2.2. Produção de inóculos dos fungos fitopatogênicos

A produção de conídios foi feita a partir da repicagem dos fungos para tubos inclinados contendo meio BDA, mantidas em BOD a 28°C, com fotoperíodo de 12h para a indução de esporulação (TÓFOLI, 1993).

Para a purificação de colônias fúngicas com esporos foi utilizada a metodologia de purificação por diluição que consiste em obter uma suspensão em Tween 80 de esporos de cada colônia, desagregados por agitação em vortex por 2 min. Foram retirados 2,5mL da solução agitada e colocada em tubo de ensaio contendo 9mL solução salina 9% e foi retirado 1mL dessa solução e transferida para outro tubo de ensaio também com 9mL de solução salina de seguidas diluições (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4}) e semeada em placas de petri com meio BDA 100µL da suspensão e espalhadas com auxílio de uma alça drigalski. As placas foram observadas diariamente verificando o crescimento dos esporos monospóricos para o posterior isolamento. Após constatação macroscópica da presença de fungo, foi efetuado o repique em placa contendo meio de cultura batata dextrose ágar (BDA) para certificação de que a cultura estava pura. Após este procedimento, cada fungo foi repicado em tubos contendo meio de cultura BDA com o intuito de preservar os isolados.

2.3. Teste de patogenicidade

O teste de patogenicidade foi realizado em quatro mudas de alface e quatro repetições de aproximadamente quarenta dias de idade, através do método de suspensão de esporos (10^6 conídios/ml) enquanto que as testemunhas receberam apenas água destilada e esterilizada. As plantas inoculadas e as testemunhas foram mantidas em câmara úmida por 48h à temperatura ambiente (Figura 7).

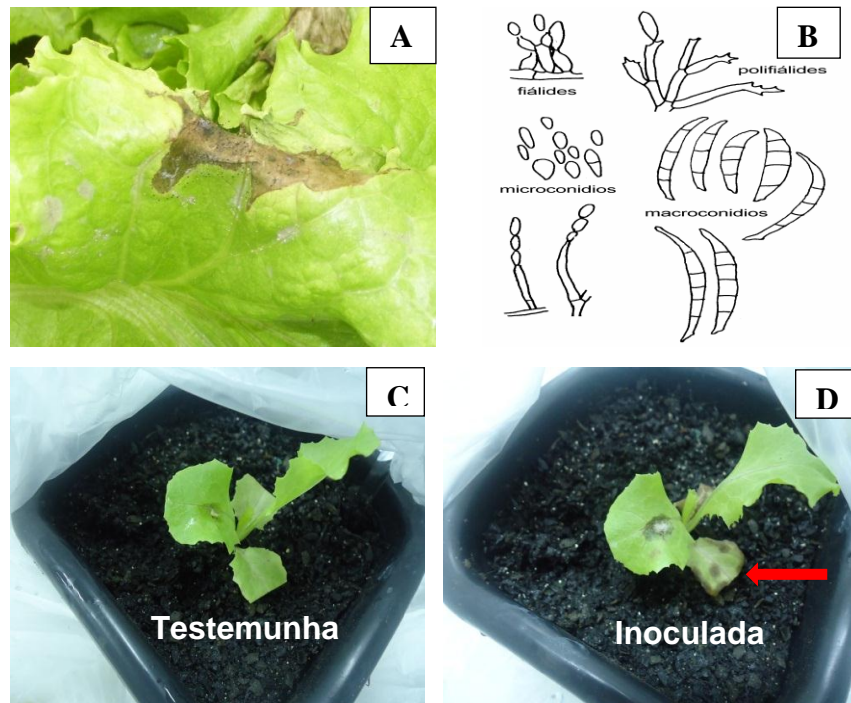


Figura 3: *Fusarium* sp. (A) alface necrosada; (B) Conídios de *Fusarium* sp; (C) e (D) Teste de patogenicidade- 7 dias após inoculação.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O isolado foi caracterizado com base na morfologia da colônia apresentando uma coloração branca, tornando-se rosa com textura cotonosa a lanosa (Figura 8). Nas características microscópicas apresentou hifas septadas produzindo dois tipos de conidióforos e conídios, estando de acordo com as descrições de Bianchini (1997). Os microconídios são ovais, pequenos, sem septo sendo produzidos em micro conidióforos pequenos e sem ramificação. Os macroconídios são grandes, multiseptados, com

forma de foice ou canoa. Características macroscópicas e microscópicas, tais como cor da colônia, o comprimento e a forma dos macroconídios, o número, forma e disposição dos microconídios, e presença ou ausência de clamidósporos são características fundamentais para a diferenciação das espécies de *Fusarium* (HOOG *et al.*, 2000).

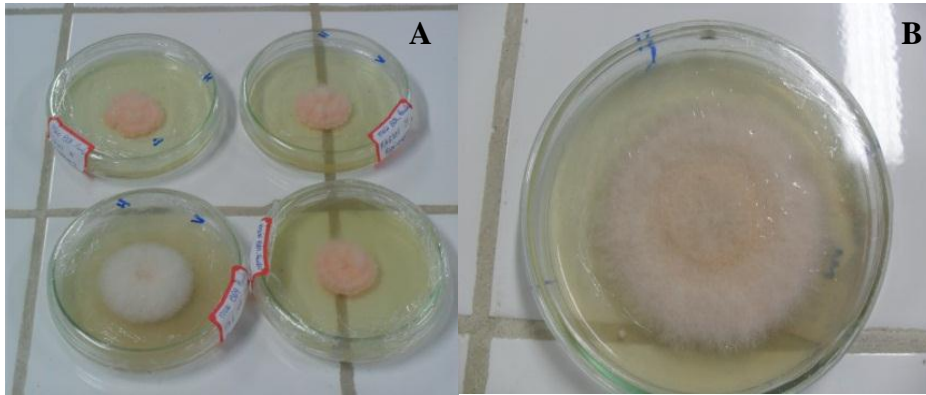


Figura 4: A- coloração branca e rosa; B- textura cotonosa com coloração rosa.

Dos 30 fungos isolados, 12 isolados cresceram no meio de cultura BDA. O *Fusarium* sp foi responsável por 50% das ocorrências sendo o gênero mais recorrente na cultura analisada (Tabela4).

Tabela 2: Isolados que se desenvolveram em meio BDA

LOCAL DA COLETA	ISOLADO	IDENTIFICAÇÃO FUNGICA
A1	FA1c	<i>não Identificado</i>
A2	FA2a	<i>Fusarium</i>
A1	FA3 b	<i>não identificado</i>
A2	FA4h	<i>Fusarium</i>
A3	FA5a	<i>não identificado</i>
A2	FA6c	<i>Fusarium</i>
A3	FA7e	<i>não identificado</i>
A3	FA8f	<i>não identificado</i>
A2	FA9a	<i>Fusarium</i>
A2	FA10l	<i>não identificado</i>
A2	FA12b	<i>Fusarium</i>
A2	FA16g	<i>não identificado</i>
Total: 3	12	50%

Dos cinco isolados do gênero *Fusarium* sp., foi feito a medição do crescimento radial em FA6c para verificar sua velocidade de crescimento. Passadas às 24 horas, o crescimento foi acompanhado intermitentemente, ocupando o diâmetro total da placa num máximo de sete dias.

Quanto ao teste fitopatogenicidade do fungo, as plantas inoculadas apresentaram sintomas de murcha após o 5º dia, enquanto as testemunhas permaneceram sadias (Figura 8 C). As culturas reisoladas em meio BDA foram semelhantes às originais, confirmando a patogenicidade do isolado.

Este é o primeiro relato de *Fusarium* sp. em alface no município de Parintins-Am.

4. CONCLUSÃO

Os fungos isolados da alface (*Lactuca sativa* L) e identificados confirmam que são do gênero *Fusarium*. Dessa forma, as áreas onde foram coletadas as hortaliças necrosadas apresentam solo contaminado pelo fungo patogênico. Há possibilidade que as áreas tenham sido contaminadas por *Fusarium* trazidos por sementes dessas culturas contaminadas. Porém, não se pode descartar a hipótese de que o fungo possa ser um habitante natural dos solos da região e se tenha adaptado para atacar as hortaliças.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

ANDRADE JUNIOR, A. S. de; KLAR, A. E. Manejo da irrigação da cultura de alface (*Lactuca sativa* L.) através do tanque classe A. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, vol.54, n.1-2, Jan./Ag. 1997.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.P.G. Doenças de feijoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3.ed. São Paulo: Ceres, 1997. v.2, p.376-399.

BODKER, L.; KJOLLER, R.; ROSENDAHL, S. Effect of phosphate and the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* on disease severity of root rot of peas (*Pisum sativum*) caused by *Aphanomyces euteiches*. **Mycorrhiza**, v.8, p.169-174, 1998.

BORGES, A. J. S. et al. Redução do mal-do-panamá em bananeira-maçã por inoculação de fungo micorrízico arbuscular. Pesquisa Agropecuária brasileira, Brasília, v.42, n.1, p.35-41, jan. 2007.

BURGESS, L. W.; SUMMERELL, B. A.; BULLOCK, S. GOTT, K. P. & BACKHOUSE, D. **Laboratory manual for *Fusarium* research**, Sydney, university of Sydney. 1994.

CARNAÚBA, J. P. et al. Ocorrência de *Fusarium solani* f. sp. *Piperis nigrum* no estado de Alagoas. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v.33, n. 1, p. 96-97, 2007.

CAVAGLIERI, L.R.; PASSONE, A.; ETCHEVERRY, M.G. Correlation between screening procedures to select root endophytes for biological control of *Fusarium verticillioides* in *Zea mays* L. **Biological Control**, v.31, p.259-267, 2004.

CORDEIRO, Z. J. M. Doenças. In: ALVES, E. J. (Ed). **A cultura da banana: Aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**. Brasília: EMBRAPA-SPI/ Cruz das Almas, 1999. P. 353-407.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. **Compendium of Soil Fungi**. NewYork. Academic Press, 859 p. 1980.

GARMENDIA, I.; GOECOICHEA, N.; AGUIRREOLEA, J. Effectiveness of three *Glomus* species in protecting pepper (*Capsicum annum* L.) against verticillium wilt. **Biological Control**, v.31, p.296-305, 2004.

GODOY, P.; COLOMBO, A. L. Biologia e relevância clínica das espécies do gênero *Fusarium* spp. **Prática hospitalar**, v. 11, n. 34, p. 136-140. 2004.

HOOG, G. S.; GUARRO, J.; GENE.J.; FIGUERAS, M. F. **Atlas of Clinical Fungi**. 2 ed, The Netherlands, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, v.1, 2000.

KIMATI, H.; AMORIM, A.B.F.; CAMARGO, L.E.A.; Rezende, J.A.M. Manual de Fitopatologia. Agronômica Ceres, São Paulo, SP, Brasil, 2005. 663pp.

KIMATI, H.; GALLI, F. Doenças da bananeira: *musa* sp. In: GALLI, F. (Coord.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres. v. 2, Doenças das plantas cultivadas, p. 87-101.1980.

KIMATI, H. controle Químico. In: BERGAMIM FILHO, A.;KIMATI,H.; AMORIM, L. (ED.). Manual de Fitopatologia. Princípios e conceitos. 3 ed. São Paulo: Ceres 1995. V. 1..p. 761-785.

LACAZ, C.L. *et al.* **Tratado de Micologia Médica**. 9ª ed. São Paulo: ARVIER. 2002

MATOS, A.P.; CABRAL, J. R. S. Manejo Integrado da Fusariose do Abacaxizeiro. **Embrapa**, Cruz das Almas, n.32, p. 1-2, out. 2005.

MILANESI, P. M. **Caracterização, toxicidade e patogenicidade de *Fusarium* spp. em genótipos de soja em sistema de plantio direto**. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Santa Maria, 2009. 91 p.

MOGHARBEL, A. D. I.; MASSON, M. L. Perigos Associados ao Consumo da Alface, (Lactuca SATIVA), IN NATURA. **Alimentação Nutricional**, Araraquara. v. 16, n. 1, p. 83-88, jan./mar. 2005.

OLIVEIRA, V. C; COSTA, J. L. S. Análise de restrição de DNA ribossomal amplificado (ARDRA) pode diferenciar *Fusarium solani* f. sp. phaseoli de *F. solani* f. sp. glycines. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, p. 631-634. 2002.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M.T.L. **Os Reinos dos Fungos**. Vol. 1. 2 ed . Santa Cruz do Sul: EDUNISC, 2004.

PUHALLA, J. E. Genetic considerations of the Genus *Fusarium*. In: NELSON, P. E.; TOUSSOUN, T. A.; COOK, R. J. (Ed) **Fusarium: diseases, biology and taxonomy**. Pennsylvania: Pennsylvania State University, v. 27, p. 291-305. 1981.

RAVEN, P. H. **Biologia Vegetal**. 7 ed. Guanabara Koogan, 2007.

SANFUENTES, E.A. et al. Supressão da atividade saprofítica de *Rhizoctonia* spp. em solos de jardim clonal de *Eucalyptus*. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, p.461-467, 2002.

SILVA, J.C. da; BETTIOL, W. Potential of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* isolates for control of *Fusarium* wilt of tomato. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, p.409-412, 2005.

STUART, R. M.; PIMENTEL, I. C.; MARCON, J. **Identificação de microrganismos Endofíticos: métodos clássicos**. In: ARAUJO *et al* (Coord). Guia prático: Isolamento e Caracterização de Microrganismos Endofíticos. Piracicaba, 2010.

TÓFOLI, JG. K. C. Avaliação da resistência de cultivares e híbridos de tomateiro à pinta preta (*Alternaria solani*). **Summa Phytopathologica**. v.19, p.39-40. 1993.

CAPÍTULO 2

RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO A QUENTE E A FRIO DAS FOLHAS DE *Caryocar villosum* (Aubl.) Pers.

VALENTE, Paula Mara Rodrigues¹(maraflower@yahoo.com.br); SCUDELLER, Veridiana Vizoni¹.

¹ Universidade Estadual do Amazonas, Centro de Estudos Superiores de Parintins – CESP/AM

RESUMO

Caryocar villosum (Aubl.) Pers. é uma árvore oleaginosa de grande porte, atingindo até 40 m de altura e 2,5 m de diâmetro e típica da Amazônia, conhecida popularmente como piquiá. A sua madeira possui ampla exploração, apreciada por apresentar fibras entrelaçadas, possuindo grande resistência e, por isso, utilizadas na indústria naval. O seu fruto é utilizado como alimento pela população ribeirinha. No entanto, poucos estudos químicos foram realizados com a espécie botânica estudada. Assim, realizou-se este trabalho com objetivo de obter extratos brutos da folha do piquiá, mediante extrações sucessivas com solventes com diferentes polaridades e utilizando dois meios de extração quente (Soxhlet) e frio (vidro âmbar). Dos extratos obtidos foram analisados seus rendimentos, onde constatou-se que existe diferença nas duas formas de obtenção do extrato bruto das folhas. O solvente que apresentou maior rendimento foi o etanólico a quente (25,54%), seguido pelo extrato metanólico a frio (14,95 %). O aquoso proporcionou rendimento menor, (6,12%). Os resultados obtidos mostram que o maior rendimento do extrato bruto de *Caryocar villosum* ocorreu com a extração a quente, com os solventes etanol e água. Entretanto, na extração a frio o maior rendimento se deu com o solvente metanol. Os solventes mais adequados para a extração das folhas foram etanol e o metanol demonstrando, assim, a presença de elevado teor de substâncias polares.

Palavras - chave: *Caryocar villosum*, extrato bruto, rendimento.

PERFORMANCE OF HOT AND COLD EXTRACTION OF LEAVES *Caryocar villosum* (Aubl.) Pers.

VALENTE, Paula Mara Rodrigues¹(maraflower@yahoo.com.br); SCUDELLER, Veridiana Vizoni¹.

¹ University of Amazonas, Centre for Advanced Studies in Parintins - CESP / AM.

ABSTRACT

Caryocar villosum (Aubl.) Pers. oilseed tree is a large, reaching up to 40 m high and 2.5 m in diameter and typical of the Amazon, known popularly as piquiá. The wood has extensive exploration, appreciated for presenting interwoven fibers, possessing great strength and therefore used in the marine industry. Its fruit is used as food by the local population. However, few studies have been conducted with the chemical species studied botany. Thus, this study was performed in order to obtain crude extracts of leaf piquiá by successive extractions with solvents with different polarities and using two means of hot extraction (Soxhlet) and cold (amber glass). The extracts were analyzed your income, where it was found that there is difference in the two ways of obtaining the crude extract of the leaves. The solvent with the highest ethanol yield was hot (25.54%), followed by cold methanol extract (14.95%). The aqueous gave lower yield (6.12%). The results show that the highest yield of crude extract *Caryocar villosum* ocorreu with the hot extraction with the solvents ethanol and water. However, in cold extraction the highest yield occurred with the solvent methanol. The most suitable solvents for the extraction of the leaves were ethanol and methanol, thus demonstrating the presence of a high content of polar substances.

Keyword: *Caryocar villosum*, crude extract, yield

1. INTRODUÇÃO

Caryocaraceae, da ordem Malpighiales (APG III, 2009), compreende 25 espécies segregadas em dois gêneros: o *Anthodiscus* G. F. W. Meyer (nove espécies) e o *Caryocar* L. (16 espécies) (PRANCE, 1990). São plantas geralmente de porte médio a grande, com folhas estipuladas, trifolioladas, que podem ser opostas ou alternadas, e flores de tamanho médio a grande, actinomórficas, com clara diferenciação, usualmente em cálice com cinco sépalas e corola também, com cinco pétalas. As flores apresentam androceu com muitos estames longos e unidos na base e gineceu com 3 a 20 lóculos (DICKISON, 1990). O fruto pode ser drupáceo ou esquizocárpico (JOLY, 1985). Restrita à América tropical, a família estende-se da Costa Rica até a Região Sudeste do Brasil (PRANCE, 1973).

Caryocar apresenta distribuição da Costa Rica ao Paraguai e estado do Paraná, Brasil, com maior diversidade na Amazônia. (PRANCE, 1990). As árvores desse gênero são grandes, com galhos opostos e horizontais. As estipulas são caducas ou ausentes. As folhas são opostas, usualmente longas e pecioladas, raramente sésseis, trifolioladas, com margens serradas, crenadas, dentadas ou raramente inteiras (PRANCE, 1990). As inflorescências são paniculadas e presentes nos racemos terminais (JOLY, 1985), os pedicelos são articulados próximos à flor (PRANCE, 1990). As flores são hermafroditas, cíclicas, grandes, de simetria radial (JOLY, 1985) e geralmente abrem à noite. O cálice geralmente é penta-lobado (raramente seis), imbricado e a flor apresenta cinco pétalas (raramente seis), soldadas na base juntamente com filamentos e, frequentemente, depois da antese (desabrochamento), cai juntamente com os estames. Esses são numerosos – em torno de 57 a 750, excedendo as pétalas. Os filamentos dobram-se em forma de “S” em botão e sua porção basal apresenta um tecido glandular secretor de néctar. As anteras são biloculares, oblongas, longitudinalmente deiscentes. O ovário pode ter de quatro a seis lóculos, com um óvulo em cada lóculo. O fruto é uma drupa, com quatro a seis lóculos, mesocarpo fino ou carnoso, gorduroso, endocarpo lenhoso, muricado, tuberculado ou espinhoso no exterior, sementes reniformes ou sub-reniformes e o embrião apresenta uma radícula reta a arqueada. A germinação é criptocotilar, com folhas opostas. O

número de cromossomos é $2n= 46$ para todo gênero de *Caryocar* (PRANCE, 1990). Plantas deste gênero são frequentemente usados como fonte de óleo a partir do fruto. O alto índice de ácido oléico potencializa o óleo do fruto como um óleo comestível. Além disso, o fruto é altamente nutritivo e é utilizado para fazer sucos e licores (PEREZ, 2004).

Caryocar villosum detém crescimento rápido e produção de madeira de boa qualidade, apresentando potencial para plantios florestais. Sua produção anual de sementes não é abundante (VASTANO JR & BARBOSA, 1983), além disso, seu poder germinativo foi considerado baixo – cerca de 32 % (ALENCAR & MAGALHÃES, 1979).

A madeira é de qualidade superior, apreciada por apresentar fibras entrelaçadas, possuindo grande resistência e, por isso, utilizadas na indústria naval. As flores do piquiazeiro são muito apreciadas pela caça, sendo assim durante a floração, os caçadores esperam pela caça embaixo das árvores (SHANLEY *et al.*, 2005).

A exploração pela madeira do piquiázeiro é uma preocupação de quem estuda a espécie, pois a cada ano é difícil encontrá-las na Amazônia, podendo se igualar a exploração da árvore de pau-rosa (SHANLEY *et al.*, 2005). Outra dificuldade é sua polinização que precisa da pequena espécie de morcego *Lonchophylla thomasi*, que pesa 8 a 15 gramas, visita às copas de piquiá e ajuda em sua polinização. A retirada de madeira e a queima da floresta diminuem o número de piquiás e morcegos (SHANLEY *et al.*, 2005).

Buscar soluções alternativas é uma meta para aqueles que têm como ideal um futuro saudável para as gerações futuras. Os avanços tecnológicos dos agroquímicos biológicos, sem dúvida, uma conquista valiosa que devemos respeitar e adotar na medida em que não agridam a natureza (TOKESHI; HARADA, 1997).

Sendo assim, este capítulo irá apresentar o rendimento dos extratos foliares de *Caryocar villosum* obtidos a quente e a frio a partir de diferentes solventes orgânicos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Área de Estudo

Neste trabalho utilizaram-se folhas de uma população de piquiá nativo, situado no município de Parintins-AM, na região da Gleba de Vila Amazônia que compreende terras da união, localizada à margem direita do rio Amazonas latitude - 02° 37' 40" Sul, longitude - 56° 44' 09" Oeste e 27 m de altitude. As coletas foram realizadas nas comunidades de Máximo, Zé Miri e Betel da Valéria.

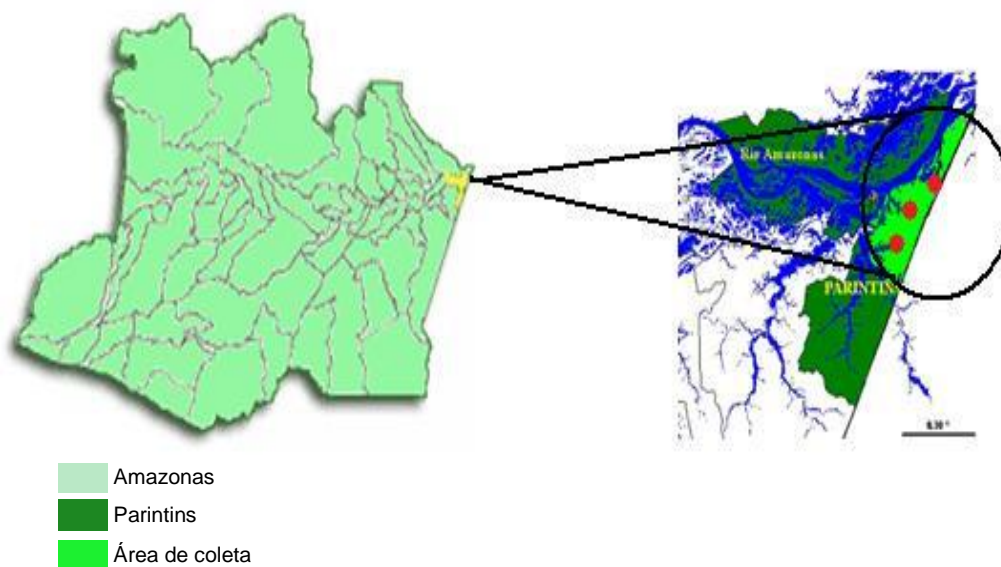


Figura. 5 – Área do Assentamento Vila Amazônia em relação ao Estado do Amazonas e município de Parintins onde se realizaram a coleta.
Fonte: Cootempa

2.2. Material vegetal

As folhas foram coletadas em agosto de 2010 e janeiro de 2011. Na área de Betel foram marcadas cinco árvores, Máximo e Zé Miri marcadas três. Em cada coleta foram retirados 1 kg de folhas por área coletada. A identificação da espécie foi realizada por comparação no herbário do INPA (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia).

As amostras das folhas foram pesadas (peso fresco) e secas em estufa a 30°C, novamente pesadas (peso seco) em seguida moídas em moinho de faca e acondicionadas em recipiente de vidro. O pó resultante foi pesado e submetido à extração dos metabólicos secundários.

2.3. Obtenção dos extratos brutos

Extração a quente no Soxhlet

Extração em aparelho Soxhlet é utilizada, sobretudo, para extrair sólidos com solventes voláteis (Figura 3). Em cada ciclo de operação, o material vegetal entra em contato com o solvente renovado; assim o processamento possibilita uma extração altamente eficiente, empregando uma quantidade reduzida de solvente (FALKNBERG *et al.*, 2004).

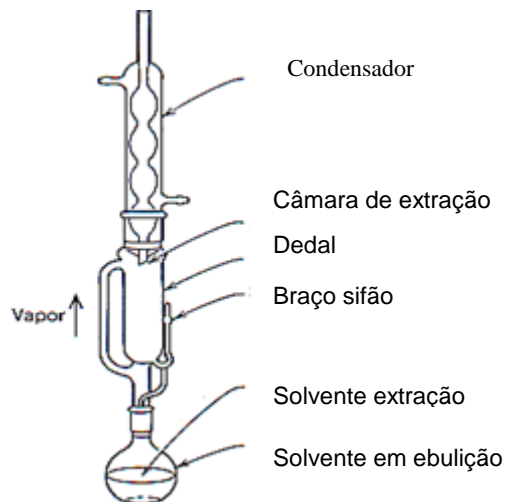


Figura 6: Extrator Soxhlet.
Fonte: Google imagens

Para a obtenção dos extratos brutos, utilizou-se 71g do material triturado acrescido de 250 mL do solvente etanol, utilizando extrator soxhlet na temperatura de 70°C para extração a quente em média de 8 horas ou até completar a lavagem do material triturado. Esse processo foi repetido respectivamente com o solvente metanol e

água. O filtrado de cada extração foi submetido ao evaporador rotatório, sob pressão reduzida à 50°C e 90 rpm. Com o extrato parcialmente concentrado. A amostra foi distribuída em placas de petri e levadas ao exaustor para completa eliminação dos solventes.

Extração a frio no vidro âmbar

Os métodos de extração a frio são a turbolização, maceração e a percolação. O método de extração a frio utilizada foi o de maceração que designa a operação na qual a extração da matéria-prima vegetal é realizada em recipiente fechado, em temperatura ambiente, durante um período prolonga de horas ou dias, sob agitação ocasional e sem renovação do líquido extrator (FALKNER *et al.*, 2004).

O material botânico triturado foi colado em três vidros âmbar. Em cada um deles adicionou-se um solvente diferente: metanol, etanol e água (200mL). Em seguida foi vedado, ficando em repouso e protegido da luz por um período de sete dias para completa lavagem do material. Após esse período as amostras foram filtradas, obtendo-se a torta. O filtrado de cada extração foi submetido à estufa a temperatura de 30° C e com o extrato parcialmente concentrado, a amostra foi distribuída em placas de petri e levadas ao exaustor para completa eliminação dos solventes. Do material obtido foi calculado o rendimento pela seguinte fórmula.

$$\text{Me} = \frac{(\text{Pf} - \text{Pi})}{\text{Me}} \times 100$$

Pi: Peso inicial

Pf: Peso final

Me: Massa esperada

3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. *Caryocar villosum*

Caryocar brasiliense Camb. chamada de pequi, planta de característica da vegetação do cerrado, seu fruto muito utilizado na culinária da região do centro do Brasil. Além disso, o fruto e as folhas são utilizados no tratamento de várias enfermidades, sendo a planta citada como uma das espécies com potencial medicinal da flora do Cerrado (VIEIRA & MARTINS, 2000). Existem estudos voltados nas suas propriedades farmacológica e terapêutica.

Comparando *Caryocar villosum* e *Caryocar brasiliense* os resultados obtidos por Gribel&Hay (1993), mostrou que *C. brasiliense* e *C. villosum* são muito similares em relação à biologia floral. Assim como em *C. brasiliense*, *C. villosum* apresenta um grande número de visitantes florais. Prance (1990) não reconhece diferença significativa entre a composição química dos óleos de *C. villosum* e *C. brasiliense* e sim as diferenças se limitam a características anatômicas que variam de acordo com a região. O pequi atinge em média de 8 a 12 metros, enquanto que piquiá atinge 40 a 45 metros. Almeida *et al.*, (1998) encontraram no Planalto Central pequi de 7 metros e em São Paulo foi encontrado de 5 metros (BARRADOS, 1972). Os frutos do *Caryocar villosum* são maiores que o do pequi. Ferreira *et al.* (1988) verificaram que a casca do fruto maduro do *Caryocar brasiliense* representa cerca de 84% do peso, a polpa representa 10% e a semente 6% do peso total. Em *Caryocar villosum*, Silva *et al.* (2004), encontraram, respectivamente, 76,7%, 10,7% e 12,6%.

Como observado na figura 4, o *Caryocar villosum* apresenta características peculiares à região Amazônica quanto a sua estrutura botânica destacando o tamanho de suas árvores.

Estudos com o fruto de piquiá demonstram seu valor nutricional sendo composto por 65% de casca, 30% de polpa e 5% de amêndoa. A polpa tem 72% de óleo, 3% de proteína, 14% de fibra e 11% de outros carboidratos. O fruto é uma excelente fonte de calorias e energia. Os animais que comem as flores também aproveitam os nutrientes do piquiá. As flores são compostas de 71% de carboidratos, 8% de proteína e 3% de gordura (SHANLEY *et al.*, 2005).

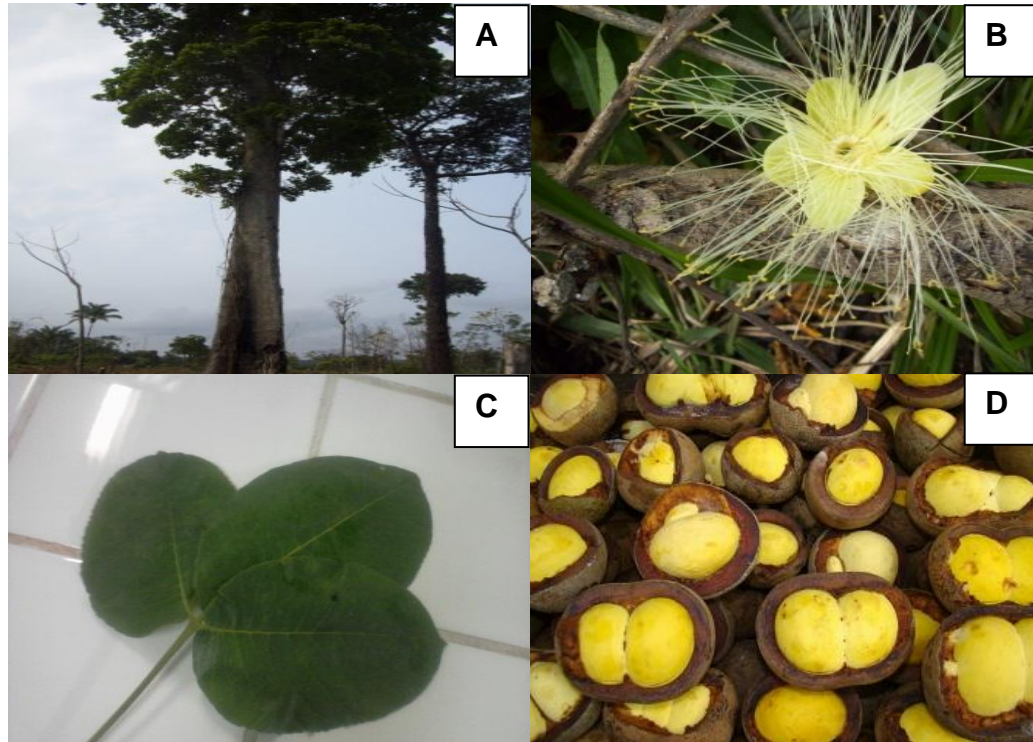


Figura 7- Árvore de piquiá (*Caryocar villosum*) A. vista geral da árvore; B. detalhe da flor. C. detalhe da folha composta e D. frutos de piquiá. Fonte: Paula Valente

A composição de ácidos graxos presentes no óleo da polpa de *C. brasiliense* é representada principalmente pelos ácidos oleico (48,7 a 57,4%) e palmítico (34,4 a 46,79%), além de componentes minoritários tais como os ácidos palmitoléico, linoleico, esteárico e araquídico, entre outros (ARAUJO, 1995; ALMEIDA, 1998; FACIOLI & GONÇALVES, 1998; SEGAL *et al.*, 2006; LIMA *et al.*, 2007).

Metabolismo é um conjunto de reações químicas que continuamente estão ocorrendo em cada célula (SANTOS, 2004). Os compostos químicos formados, degradados são chamados de metabólitos e as reações enzimáticas envolvidas, respectivamente, são designadas como anabólicas, catabólicas ou de biotransformação (SANTOS, 2004).

De acordo com a teoria evolucionista, todos os seres vivos derivam de um precursor, do qual se conservam algumas características. Isso explicaria a presença das principais macromoléculas (carboidratos, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos), essenciais para animais e vegetais. Por serem considerados processos essenciais à

vida e comuns aos seres vivos, têm sido definidos como integrantes do metabolismo primário (SANTOS, 2004).

Vegetais, microrganismos e, em menor escala, animais, entretanto, apresentam todo um arsenal metabólico capaz de produzir, transformar e acumular inúmeras outras substâncias. A todo esse conjunto metabólico costuma-se definir como metabolismo secundário, cujos produtos, embora não necessariamente essenciais para o organismo produtor, garantem vantagens para sua sobrevivência (SANTOS, 2004). As rotas metabólicas dos metabólitos secundários, entretanto, não são gerais e talvez só sejam ativadas em alguns estágios particulares de crescimento e desenvolvimento ou em períodos de estresse causados por limitações nutricionais ou ataque microbiológico (MANN, 1995).

É grande a procura dos extratos produzidos com matérias-primas da região Amazônica, uma realidade presente no mercado consumidor. A presença de uma vasta gama de compostos orgânicos naturais de origem vegetal, produtos do metabolismo primário e secundário, é biologicamente ativo, isto é, tem ação tranquilizante, analgésica, antiinflamatória, citotóxica, anticoncepcional, antimicrobiana, antiviral, fungicida e inseticida (PLETSCBI,1998). Entretanto sabe-se que grande parte da flora amazônica não foi estudada e que compostos orgânicos, a partir de plantas podem ser capazes de controlar o desenvolvimento de fitopatógenos.

Vários extratos brutos e óleos essenciais de plantas já foram testados sobre fungos fitopatógenos em diversos trabalhos (TAKATSUKA *et al.*, 2003; BALBI-PENA *et al.*, 2006; PEREIRA *et al.*, 2006).

Dentre os compostos fenólicos pertencentes ao metabolismo secundário dos vegetais são encontradas estruturas tão variadas quanto às dos ácidos fenólicos, dos derivados da cumarina, dos pigmentos hidrossolúveis das flores, dos frutos e das folhas (CARVALHO *et al.*,2004).

Os polifenóis são resultados das muitas combinações de compostos fenólicos existentes na natureza, decorrentes de sua diversidade estrutural. Essas diferentes combinações fenólicas podem ser classificadas de acordo com as suas estruturas básicas (HARBORNE, 1989). A Tabela 1 apresenta as estruturas químicas básicas de algumas classes de compostos fenólicos encontrados em diversas plantas.

Tabela 3.Classes de compostos fenólicos em plantas

Classe	Estrutura básica
Fenólicos simples, benzoquinonas	C_6
Ácidos hidroxibenzóicos	$C_6 - C_1$
Acetofenol, ácidos fenilacéticos	$C_6 - C_2$
Ácidos hidroxicinâmicos, fenilpropanóides	$C_6 - C_3$
Nafitoquinonas	$C_6 - C_4$
Xantonas	$C_6 - C_1 - C_6$
Estilbenos, antoquinonas	$C_6 - C_2 - C_6$
Flavonóides, isoflavonóides	$C_6 - C_3 - C_6$
Lignanas, neolignanas	$(C_6 - C_3)_2$
Biflavonóides	$(C_6 - C_3 - C_6)_2$
Ligninas	$(C_6 - C_3)_n$
Taninos condensados	$(C_6 - C_3 - C_6)_n$

Fonte: HARBORNE, 1989

Existem poucos estudos fitoquímicos voltados à *Caryocar villosum*. Esta espécie tem grande valor econômico e praticamente todas as partes da planta são utilizadas. As sementes são comestíveis e muito procuradas por sua polpa carnuda e aromática, considerada de alto valor nutricional, pois contêm altos teores de caroteno (pró-vitamina A), riboflavina, fósforo, ferro e cobre. O óleo retirado das amêndoas e da polpa é utilizado na manufatura de sabão doméstico e na indústria de cosméticos. As folhas, casca da árvore e polpa do fruto são ricas fontes de taninos e a madeira é resistente e durável (ARAÚJO, 1995). Os taninos são responsáveis por inúmeras atividades biológicas devido principalmente a capacidade de complexar com proteínas, polissacarídeos, alcalóides, íons metálicos e por apresentarem atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres.

Marinho e Castro (2000), indicam a presença no piquiá, *Caryocar villosum* os seguintes carotenóides: β - caroteno, γ - caroteno e criptoxantina. Segundo estudos científicos a cerca do papel destes componentes na saúde humana, têm forte ligação com a prevenção de doenças em humanos e animais (SANTOS, 2008).

3.2. Extração com solventes orgânicos

As extrações com solventes orgânicos podem utilizar uma ampla variedade de solventes com polaridades distintas como: álcoois metílico, etílico e propílico, hexano,

clorofórmio, acetato de etila, acetona, água, éter de petróleo. São técnicas comumente aplicadas nas indústrias química, farmacêutica e de alimentos para a produção de extratos diversos (MEZZOMO, 2008).

Os rendimentos dos extratos brutos das folhas de *Caryocar villosum* podem ser observados na Tabela 2.

Tabela 4- Rendimento do extrato bruto das folhas de *Caryocar villosum* por percolação à temperatura ambiente em Soxhlet à temperatura de ebulição de cada solvente orgânico.

Extratos	Quente		Frio	
	(g)	(%)	(g)	(%)
etanólico	18,14	25,54	2,17	3,05
metanólico	5,08	7,15	10,62	14,95
aquoso	9,15	12,88	4,35	6,12
Total	32,36	45,57	17,14	24,12

Constatou-se que existe diferença nas duas formas de obtenção do extrato bruto das folhas. O solvente que apresentou maior rendimento foi o etanólico a quente (25,54%), seguido pelo extrato metanólico a frio (14,95 %) representados na Figura 1. O aquoso proporcionou rendimento menor, (6,12%). Segundo Falkenberg *et al.* (2004), se forem observadas as características de polaridade de cada solvente, pode-se inferir os tipos de substâncias que tenham sido extraídas. As substâncias mais facilmente encontradas em extração com etanol e metanol, encontram-se cumarinas simples, taninos, ceras, sapogeninas, iridóides e sesquiterpenos. Para Sonaglio *et al.*, (2004), a água é um dos líquidos extratores mais importantes sendo utilizada na extração de substâncias hidrofílicas, como aminoácidos, açúcares, alcalóides na forma de sal, saponinas, heterosídeos, flavonoídicos e mucilagens.

Bezerra *et al.* (2002), por meio de extração etanólica, avaliou também as folhas de *C. brasiliense*, indicando a presença de taninos, flavonoides e terpenos. Oliveira, Gilbert e Mors (1968) detectaram esteroides e triterpenoides e Magalhães *et al.*(1988) demonstraram a presença de taninos, saponinas, flavonoides e heterosídeos antociânicos nas folhas desta espécie.

Rendimento do Extrato Bruto (%)

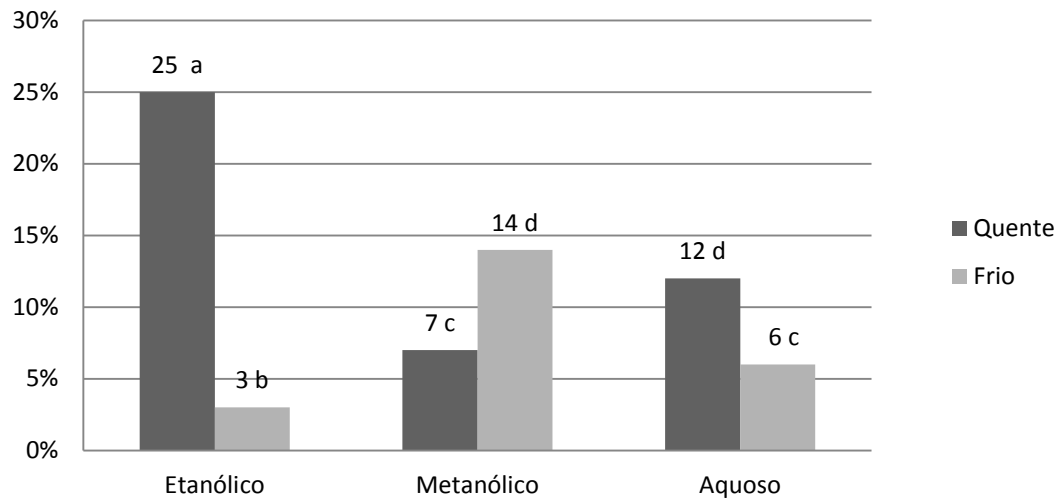


Figura 8. Gráfico de rendimento para extrato de folhas de *Caryocar villosum* obtidos através de Soxhlet e a temperatura ambiente.

Aplicando-se o Teste de Tukey para a verificação de onde estão as diferenças significativas, observou-se que o solvente metanol a quente diferiu significativamente do metanol a frio, e que se obteve o maior rendimento na extração. Na extração com solvente aquoso verificou-se diferença significativa no aquoso a quente, onde obteve maior rendimento na extração.

4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem inferir que o maior rendimento do extrato bruto de *Caryocar villosum* ocorreu com a extração a quente obtendo 25, 54% utilizando o solvente etanol e 14, 95 % com o solvente aquoso. Entretanto, na extração a frio o maior rendimento se deu com o solvente metanol. Os solventes mais adequados para a extração das folhas foram etanol e o metanol demonstrando, assim, a presença de elevado teor de substâncias polares.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- ALENCAR, J. C.; MAGALHÃES, L. M. S. Poder germinativo de sementes de doze espécies florestais da região de Manaus. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 9, n. 3, p. 411-418, 1979.
- ALMEIDA, S. P.; SILVA, J. **Pequi e buruti**: Importância alimentar para a população dos Cerrados. Planaltina, DF: EMBRAPA, CPAC, 2004.38p
- ALMEIDA, S. P. A; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S.M.; RIBEIRO, J.F. Cerrado: Espécies vegetais úteis. Planaltina. **Embrapa** – CPAC, 1998. 464p.
- APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**.
- ARAÚJO, F.D. A review of *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) - Na economical valuable species of the central Brazilian cerrados. **Economic Botany**, v. 49, n.1, p. 40-48, 1995.
- BALBI-PEÑA, M. I. et al. Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e curcumina – I. Avaliação in vitro. **Fitopatologia Brasileira**, n. 1,p.10-14. 2006.
- BARRADAS, M. M. Informações sobre floração, frutificação e dispersão do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb. - Caryocaraceae). **Ciência e Cultura**, v. 24, n.11, p.1063-1068, nov. 1972.
- BEZERRA, J.C.B. et al. Molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata* of Brazilian Cerrado medicinal plants. **Fitoterapia**, n.73,p.428-430, 2002.
- CARVALHO, J. C. T. et al. Compostos fenólicos simples e heterosídicos . In: SIMÕES, C.M. O. et. al. (Org). Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre/ Florianópolis : UFRGS/ UFSC,2004. Cap. 20
- DICKINSON, W. C. A study of the floral morphology and anatomy of the Caryocaraceae. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, New York, v. 117, n. 2, p. 123- 137, 1990.
- FACIOLI, N. L.; GONCALVES, L. A. G. Modificação por via enzimática da composição triglicéridica do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Química Nova** v.21, n. 1, p. 16-19, 1998.
- FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M.O. Introdução à análise fitoquímica, In: SIMÕES, C. M.O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.;MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia**. Florianópolis: UFSC, 2004. Cap10.

FERREIRA, F. R.; BIANCO, S.; DURIGAN, J.F.; BELINGIERI, P.A. Caracterização física e química de frutos maduros de pequi. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 9., 1987, Campinas, Anais.Campinas: **Sociedade Brasileira de Fruticultura**, 1988. v. 2, p.643-646.

GRIBEL, R.; HAY, J.D. Pollination ecology of *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) In Central Brazil Cerrado Vegetation. **Journal of Tropical Ecology**.V.9, p. 199-211, 1993.

JOLY, A. B. **Botânica – Introdução à taxonomia vegetal**. 7.ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1985. p. 324-329.

HARBORNE, J. B. Methods in plant biochemistry, I: plant phenolics. London: Academic Press, 1989.

LIMA, A.; SILVA, A. M. O.; TRINDADE,R. A.; TORRES, R. P.; MANCIN-FILHO,J. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.).**Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 29, n. 3, p. 695 - 698, 2007.

MAGALHÃES, H. G. et al. Estudo estruturaldo pequizeiro *Caryocar brasiliense* Camb. Caryocaraceae, sob o aspecto farmacológico e botânico. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v.69, n. 1/3, p. 31-41, 1988.

MANN, J. **Secondary metabolism**.2. ed. New York: Oxford University Press, p. 1995-374

MARINHO, H. A.; CASTRO, J. S. Carotenoides e valor de pró- vitamina A em frutos da região Amazônica :pajurá, piquiá, tucumã e umari. 2000. In: XVII **Congresso Brasileiro de Fruticultura**, 2002, Belém. Anais do Congresso, 2002.

MEZZOMO, N. **Óleo de amêndoa de pêssego: avaliação da técnica de extração, da qualidade dos extratos e parâmetros para ampliação de escala**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008. 136 p.

OLIVEIRA, M. M.; GILBERT, B.; MORS,W. B. Triterpenes in *Caryocar brasiliense*.**Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 40, p. 451, 1968.

PEREIRA, M. C.; VILELA, G. R.; COSTA, L. M. A. S.. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência Agrotecnológica**. v. 30, n.4, p. 731-733, 2006.

PEREZ, E. **Diagnose Fitoquímica dos Frutos de *Caryocar Brasiliense* Camb.,Caryocaraceae**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004. 113f.

PLETSCBI, M. Compostos Naturais Biologicamente Ativos. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**. Ano 1, n. 4, jan./ fev. 1998.

PRANCE, G.T. Phytogeographic support for the theory of Pleistocene forest refuges in the Amazon basin, based on evidence from distribution patterns in Caryocaraceae, Chrysobalanaceae, Dichapetalaceae and Lecythidaceae. **Acta Amazonica**, v. 3 p. 5-28. 1973

PRANCE, G. T. The genus *Caryocar* L. (Caryocaraceae): an underexploited tropical resource. **Advances in Economic Botany**, Bronx, v. 8, p. 188, 1990.

RIBEIRO, J.E.L.S., HOPKINS, M.J.G., VICENTINE, A., SOTHERS, C.A., COSTA, M.A.S., BRITO, J.M., SOUZA, M.A.D., MARTINS, L.H.P., LOHMANN, L.G., ASSUNÇÃO, P.A.C.L., PEREIRA, E.C., SILVA, C.F., MESQUITA, M.R. & PROCÓPIO, L.C. **Flora da Reserva Ducke: Guia de Identificação das Plantas Vasculares de uma Floresta de Terra Firme na Amazônia Central**. INPA, Manaus. 1999.

SANTOS, M. S. L. **Efeito da radiação gama do 60C° em frutos de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb)**. Tese (Doutorado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura da universidade de são Paulo. Piracicaba, 2008. 71p.

SANTOS, R. I. Metabolismo Básico e Origem dos Metabolitos Secundários. In: SIMÕES, C.M. O. *et. al.* (Org). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/ Florianópolis : UFRGS/ UFSC,2004. Cap. 16

SEGAL, S. D.; ARTZ,W.E.; RASLAN, D. S.; FERRAZ, V. P.; TAKAHASHI,J. A. Triacylglycerol analysis of pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) oil by electrospray and tandem mass spectrometry. **Journal of the Science of food and Agriculture**. V. 86, n.3, p. 445-452, 2006.

SILVA, R. F.; CARVALHO, J. E. U.; MÜLLER, C. H. Biometria e composição centesimal de frutas da Amazônia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA. Florianópolis. Anais... Florianópolis: **Sociedade Brasileira de Fruticultura**, 2004. p.22-26.

SHANLEY, P.; MEDINA, G. **Frutíferas e Plantas Úteis na Vida Amazônica**. Belém: CIFOR, Imazon, 2005.

SONAGLIO, D.; ORTEGA, G. G.; PETROVICK, P. R.; BASSANI, V. L. Desenvolvimento tecnológico de produção de fitoterápicos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Eds.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**.5 ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS. p. 289-326, 2003.

TAKATSUKA, F. S. et al. Efeito do óleo essencial de açafrão (*Curcuma longa*) sobre o desenvolvimento micelial de fungos. **36° Congresso Brasileiro de Fitopatologia**, Uberlândia, Brasil, v.28, p.361. 2003.

TOKESHI, H.; HARADA, D. Y. Controle integrado de doenças de espécies olerícolas. **Horticultura Brasileira**. v. 15, 1997 .

VIEIRA, R. F., MARTINS, M. V. M. Recursos genéticos de plantas medicinais do cerrado: uma compilação de dados. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu, v. 3, n.1, p.13-36, 2000.

VILELA, A.L.M. **Avaliação dos Efeitos Antigenotóxicos, Antioxidantes e Farmacológicos de Extratos da Polpa do Fruto do Pequi (*Caryocar brasiliense* CAMB)**. Tese (Doutorado em Biologia Animal do Instituto de ciências Biológicas) – Universidade de Brasília, 2006. p.171

VASTANO JR, B.; BARBOSA, A. P. Propagação vegetativa do piquiá (*Caryocar villosum* Pers.) por estaquia. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 13, n. 1, p. 143-148, 1983.

CAPÍTULO 3

AÇÃO “IN VITRO” DE EXTRATO FOLIAR DE *Caryocar Villosum* (CARYOCARACEAE) SOBRE *Fusarium* sp.

VALENTE, Paula Mara Rodrigues¹(maraflower@yahoo.com.br); SCUDELLER, Veridiana Vizoni¹.

¹ Universidade Estadual do Amazonas, Centro de Estudos Superiores de Parintins – CESP/AM

RESUMO

A maioria das plantas é resistente aos diferentes patógenos, e essa resistência pode estar relacionada à existência de compostos antifúngicos naturais produzidos. Com o presente trabalho, avaliou-se o efeito de concentrações de extrato foliar de *Caryocar villosum* sobre fungo *Fusarium* sp., pelo método bioanalítico *in vitro* sobre o crescimento micelial e germinação de conídios. Utilizou-se extrato foliar do *C. villosum* nas concentrações de 1g/L, 5g/L, 10g/L e 15g/L em meio de cultura BDA fundente. Os resultados demonstraram que a partir da concentração 10g/L, o extrato etanólico a quente apresentou inibição, sendo que 15g/L inibiu 90% do crescimento micelial do fungo *Fusarium* sp., no final de sete dias. Para a germinação de conídios foi utilizado dez discos de papel celofane de 0,8 cm de diâmetro colocados em placa de petri sobre três discos de papel filtro embebidos em solução de extratos nas concentrações 1g/L, 5g/L, 10g/L e 15g/L. e avaliado após 16h. Quando foi comparada a ação dos extratos quente e frio sobre a inibição da germinação dos conídios, a extração etanólico a quente conseguiu inibir 50% na concentração 10g/L e 70% na concentração 15g/L. O extrato foliar de *Caryocar villosum* mostrou inibição crescente sobre o sobre o crescimento micelial e a germinação dos conídios.

Palavras-chave: *Fusarium*, crescimento micelial, germinação de conídios

ACTION "INVITRO" LEAF EXTRACT *Caryocar Villosum* (CARYOCARACEAE) ON *Fusarium* sp.

VALENTE, Paula Mara Rodrigues¹(maraflower@yahoo.com.br); SCUDELLER, Veridiana Vizoni¹.

¹ University of Amazonas, Centre for Advanced Studies in Parintins - CESP / AM.

ABSTRACT

Most plants are resistant to different pathogens, and this resistance can be related to the existence of natural compostos antifúngicos produced. With this study, we evaluated the effect of leaf extract concentrations on *Caryocar villosum* fungus *Fusarium* sp., Bioanalytical method for in vitro on mycelial growth and germination conídios. Utilizou up the leaf extract at concentrations of *C. villosum* 1g / L, 5g / L, 10g / L and 15g/L em PDA culture medium flux. The results demonstrated that as the concentration 10g / L, the ethanol extract of the hot showed inhibition, whereas 15g / L inhibited 90% of mycelial growth *Fusarium* sp. at the end of seven days. For germination of conidia was used ten cellophane disks of 0.8 cm diameter placed in petri dishes on three discs of filter paper soaked in solution at concentrations of extracts 1g / L, 5g / L, 10g / L and 15g / L. and evaluated after 16h. When we compared the action of hot and cold extracts on the inhibition of germination of conidia, hot ethanol extraction could inhibit 50% concentration 10g / L and 70% in the concentration 15g / L. The leaf extract showed inhibition of *Caryocar villosum* growing on mycelial growth and spore germination.

Key words: *Fusarium*, mycelial growth, conidial germination

1. INTRODUÇÃO

Fusarium sp. é um fungo fitopatogênico capaz de provocar danos severos a várias espécies agrícolas de importância econômica. Além disso, o uso destes pesticidas em longo prazo causa impactos negativos para a sociedade e para o meio ambiente devido à poluição causada pelos resíduos químicos. Frente a este problema, uma estratégia atual da agricultura, consiste em buscar métodos alternativos para o controle de doenças e pestes, que visem causar menos danos ao ambiente e a saúde humana. Os estudos realizados com extratos vegetais visando o controle de fitopatógenos tem comprovado que tais produtos podem representar uma fonte inesgotável de substâncias com potencial fungicida (AZEVEDO, 2003). Trabalhos desenvolvidos com extratos brutos ou óleos essenciais, obtidos a partir de plantas medicinais têm indicado o potencial das mesmas no controle de fitopatógenos (BAUTISTA-BAÑOS *et al.*, 2003; CUNICO *et al.*, 2003; MYTLE *et al.*, 2004; MOREIRA *et al.*, 2004).

As hortaliças são alvo preferido do fitopatógeno causando murcha vascular dos vegetais (AGRIOS, 2005). A alface (*Lactuca sativa* L.), pertence à família Asteraceae, é uma das hortaliças mais importantes do mercado brasileiro. Acredita-se que foi introduzido no país pelos portugueses, no século XVI (MOGHARBEL & MASSON, 2005) e atualmente é a folhosa mais consumida pelos brasileiros. Além de possuir sabor agradável e refrescante, é rica em sais minerais, vitaminas e ainda apresenta efeito calmante, diurético e laxante (SALA *et al.*, 2005). É considerada uma planta de propriedades tranquilizantes e que, devido ao fato de ser consumida crua, conserva todas as suas propriedades nutritivas. (ANDRADE JUNIOR e KLAR, 1997).

Os cuidados devem ser tomados pelo fato do seu cultivo tradicional utilizar canteiros de terra, onde durante o seu desenvolvimento o vegetal fica em contato com o solo. É no solo que as hortaliças, por serem sensíveis, podem sofrer ataque pelo fitopatógeno ocasionando perda da produtividade e descarte da produção (MELGAR *et al.*, 1994)

Há muitos anos, o principal meio de controle de pragas é o uso de compostos químicos sintéticos. Apesar de sua significativa contribuição para a produção agrícola, o

uso intensivo e indiscriminado destes produtos favoreceu o surgimento de pragas secundárias e não conseguiu eliminar os problemas já existentes; além disso, são altamente tóxicos, sendo prejudiciais ao ambiente e à saúde humana. (MARQUES *et al.*, 2004).

A grande preocupação com o meio ambiente tem levado a busca de alternativas viáveis, efetivas e seguras no controle de pragas e doenças que acometem culturas de plantas de interesse comercial (KIMATI *et al.*, 1997). Plantas apresentam compostos secundários capazes de agirem como controle biológico evitando ataques de pragas (BOWLES, 1990).

Diversos constituintes químicos podem ser encontrados na família Caryocaraceae: carotenóides, vitaminas, taninos, flavonóides (ROBBERS *et al.*, 1996). A espécie *Caryocar villosum* (Aubl.) Pers. apresenta poucas informações voltadas à parte fitoquímica de sua planta comparado com *Caryocar brasiliense* Camb. (PEREZ, 2004.)

Considerando-se que *Caryocar villosum* é uma espécie que não possui relatos sobre atividade biológica. Procurou-se neste trabalho avaliar *in vitro* a ação antifúngica do extrato das folhas de *Caryocar villosum* coletadas na região amazônica frente ao fungo *Fusarium* sp.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Os extratos vegetais

Foram utilizados os extratos etanólico, metanólico e aquoso das folhas de *Caryocar villosum* (vide descrição no Capítulo 2 desta dissertação) extraídos quente e frio no bioteste da inibição do crescimento micelial e na inibição da germinação de conídios do fungo *Fusarium* sp. isolados de alface (vide capítulo 1 desta dissertação).

2.2.Determinação das concentrações de extrato sobre o crescimento micelial do fungo

A atividade das concentrações dos extratos foi avaliada através da inibição do crescimento miceliano do patógeno. Utilizou-se extrato foliar do *Caryocar villosum* nas concentrações de 1g/L, 5g/L, 10g/L e 15g/L em meio de cultura BDA. O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 1x1x5 (um extrato, um fungo e cinco concentrações). Para cada tratamento extrato/concentração foram empregadas três repetições e analisados no programa estatístico Biostat 7.0, pela ANOVA.

Desta forma, o extrato da planta foi primeiramente adicionado ao meio BDA fundente com temperatura máxima de 45°C, adaptado de Auer e Bettiol (1986) que analisa o efeito do extrato testado sobre o avanço da fronteira micelial do fungo. Em seguida vertido em placas de petri de 9 cm de diâmetro. Cada placa foi inoculada, no centro, com um disco de 5 mm de diâmetro, contendo micélios da cultura monospórica, que em seguida eram vedadas com filme plástico e incubadas em estufa a 25°C sob fotoperíodo de 12h (GRIGOLETTI JR & LAU, 1999). A avaliação do crescimento micelial era feita pela média de duas medidas perpendiculares do diâmetro da fronteira micelial realizadas diariamente.

Foram realizadas avaliações, calculando-se a porcentagem de inibição do crescimento (PIC) dos tratamentos em relação à testemunha utilizando-se a fórmula.

$$\text{PIC (\%)} = [(D_c - D_t) / D_t] \times 100$$

Onde:

D_c é o diâmetro da colônia na placa controle

D_t é o diâmetro da colônia na placa teste.

2.3. Determinação das concentrações de extrato foliar sobre a germinação dos conídios

A atividade antifúngica das diferentes concentrações do extrato foi avaliada microscopicamente, pela observação por meio da inibição da germinação dos conídios do fungo. A suspensão dos conídios foi obtida adicionando-se água destilada estéril às culturas fúngicas em placas de petri e, posteriormente, filtrando-se esse conteúdo em gaze. A concentração de esporos dessa suspensão foi determinada com auxílio de hemacitômetro (câmara de Neubauer) e ajustada para 2×10^4 conídios. mL⁻¹.

Para o experimento de inibição de germinação de conídios, foi utilizado o método do Celofane descrito por Nelly (1978). Dez discos de papel celofane de 0,8 cm de diâmetro foram colocados em placa de petri sobre três discos de papel filtro embebidos em solução de extratos nas concentrações 1g/L, 5g/L, 10g/L e 15g/L, em triplicata. Posteriormente 1gota de suspensão de conídios de *Fusarium* sp. na concentração de 10^4 conídios/mL⁻¹ foi depositada sobre cada disco de celofane. As placas assim preparadas foram mantidas sob fotoperíodo de 12 h e 25° C.

A avaliação de germinação dos conídios foi feita transferindo-se os discos de celofane para uma lâmina de vidro, com auxílio de uma pinça, sobre a qual foram colocadas uma gota de água e uma lâmina. A observação foi realizada em microscópio óptico após 16 h de inoculação considerando-se como germinados os conídios que apresentam tubo germinativo ou em início de formação. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com três repetições, sendo que cada parcela constituiu-se de uma placa de petri com 10 discos de celofane.

2.4. Solubilidade dos extratos

Para realização dos biotestes, foi necessário conhecer os possíveis solventes no quais os extratos foram solúveis. Sendo assim, na Tabela 5 verifica-se que, de modo geral, os extratos são solúveis nos mesmos tipos de solventes.

Tabela 5: Solubilidade dos extratos etanólico (EE), extrato metanólico (EM) e extrato aquoso (EA).

Solventes	EE	EM	EA
Etanol	S	os	S
Metanol	S	os	S
Água	os	I	S
Metanol/água 1.1	S	os	S

S- Solúvel; OS - Parcialmente solúvel; I- Insolúvel

Dessa forma, no teste de solventes sobre o crescimento micelial e contagem de conídios do *Fusarium* sp., utilizou o solvente metanol/água (1:3) de acordo com Marques *et al.* (2002). O solvente metanol/água (1:3) foi escolhido solvente ideal para solubilizar os extratos para os biotestes porque não foi tóxico para fungos, não interferindo no efeito dos extratos e também porque teve a capacidade de solubilizar a maioria dos extratos utilizados nos biotestes.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Efeito de extrato vegetal sobre o crescimento micelial do fungo *Fusarium* sp.

O extrato etanólico a quente apresentou potencial de inibição crescente em função do aumento da concentração, diferenciando entre tratamentos ($F = 251,46$; $p = 0,0001$) e blocos ($F = 22,62$; $p = 0,0003$) pela ANOVA blocos inteiramente ao acaso com repetições, sendo observada a média de 1,5 para o bloco quente e 1,8 para o frio. Os resultados da análise de variância revelaram interação significativa entre os fatores extrato vegetal x concentrações e entre fatores quentes x frio. Marques *et al.* (2002), avaliando inibição do fungo *F. oxysporum*, verificou interação entre extratos e concentrações, fungos e extratos e extratos e fungos, utilizando extrato etanólico foliar de *Caryocar brasiliense*. O extrato etanólico a quente apresentou diferença significativa a partir da concentração 10g/L, sendo que 15g/L inibiu 90% do crescimento micelial do fungo *Fusarium* sp. No extrato etanólico a frio apresentou diferença significativa na concentração 10g/L, não diferindo da concentração 15g/L onde inibiu 69% do crescimento micelial. Marques *et al.* (2002), avaliando extrato foliar e de botão floral de

Caryocar Brasiliense obteve bom rendimento e inibição com extrato etanólico, confirmando a presença de elevado teor de substâncias polares.

Nota-se tabela 6 que o extrato etanólico a quente apresentou diferença significativa entre as médias dos blocos, confirmando que o extrato a quente foi mais eficiente na inibição do crescimento micelial do fungo testado.

Tabela 6: Crescimento micelial (diâmetro médio em cm e porcentagem de inibição em relação a testemunha) de *Fusarium* sp., em meios quente e frio, e em placas de petri de 9 cm de diâmetro, contendo meio de cultura BDA + extrato etanólico em diferentes concentrações.

	Concentrações g/L									Médias de Blocos
	Controle	1	%	5	%	10	%	15	%	
Quente	3,3 d	1,7 c	48	1,5 c	54	0,7 b	78	0,3 a	90	$\bar{x}_Q=1,5a$
Frio	3,3 c	1,8 b	45	1,7 b	48	1,2 a	63	1,0 a	69	$\bar{x}_F=1,8b$

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

O extrato etanólico a quente apresentou o potencial fungicida promovendo uma redução linear sobre o diâmetro da colônia de *Fusarium*, com o aumento das concentrações utilizadas (Figura 9).

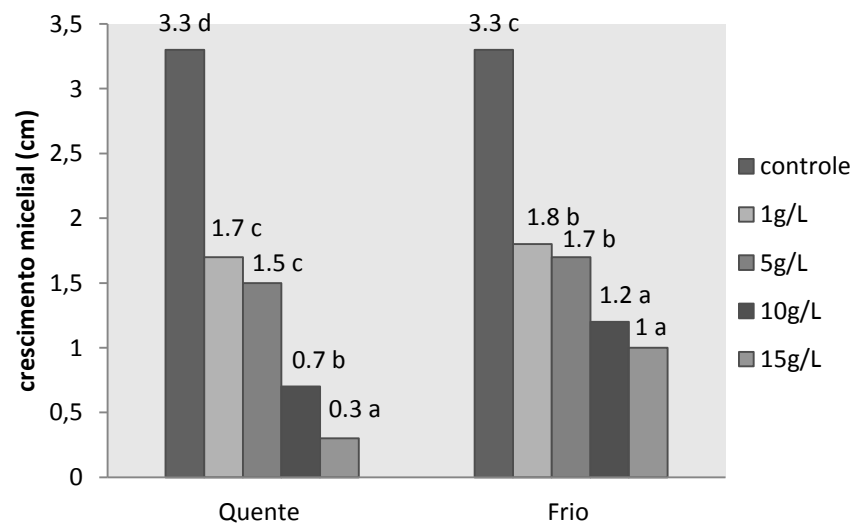


Figura 9: Crescimento micelial de *Fusarium* sp. em diferentes concentrações do extrato etanólico de *Caryocar villosum* as letras diferentes representam diferença estatística.

Quando se utilizou o extrato metanólico a quente, verificou-se que entre a concentração 10 g/L e 15 g/L não houve diferença significativa, apresentando inibição de 81% a partir da concentração de 10 g/L. No tratamento com o extrato metanólico a frio o melhor resultado foi na concentração 15g/L inibindo 81% do crescimento micelial. Na Tabela 7 são apresentados os resultados em porcentagem de inibição e a diferença entre médias de blocos do extrato metanólico a quente e a frio, mostrando que a inibição no crescimento micelial foi eficiente em meio quente (Figura 10).

Tabela 7: Crescimento micelial (diâmetro médio em cm e porcentagem de inibição em relação à testemunha) de *Fusarium* sp., em meios quente e frio e em placas de petri de 9 cm de diâmetro, contendo meio de cultura BDA + extrato metanólico em diferentes concentrações.

		Concentrações g/L								
	Controle	1	%	5	%	10	%	15	%	Medias de Blocos
Quente	3,3	1,8 c	45	1,4 b	57	0,6 a	81	0,3 a	90	$\bar{x}_Q=1.5a$
Frio	3,3	2,4 c	27	1,4 b	57	1,4 b	57	0,6 a	81	$\bar{x}_F=1,8b$

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

O efeito no crescimento micelial de *Fusarium* sp., submetido ao meio de cultura com adição de extrato metanólico quente e frio mostraram resultados diferentes com o aumento das concentrações utilizadas, verificando-se menor diâmetro da colônia fúngica nas maiores concentrações. Constata-se, no entanto, uma redução mais expressiva no crescimento do patógeno quando submetido ao extrato a quente (Figura 10).

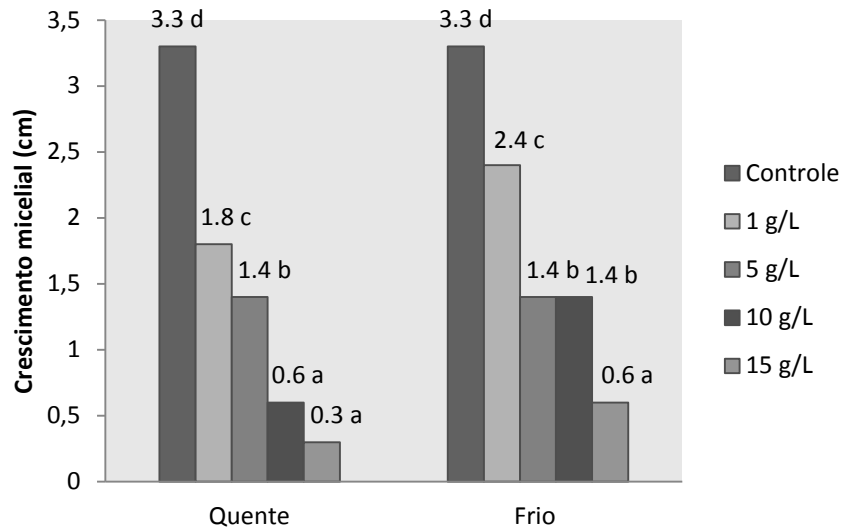


Figura 10: Crescimento micelial de *Fusarium* sp. em diferentes concentrações do extrato metanólico de *Caryocar villosum*, as letras diferentes representam diferença estatística.

O extrato aquoso a quente apresentou melhor eficiência na inibição do crescimento do patógeno reduzindo significativamente (Tabela 8), diferenciando entre tratamentos ($F = 251,29$; $p = 0,0001$) e blocos ($F = 51,27$; $p = 0,0001$) pela ANOVA blocos inteiramente ao acaso com repetições, sendo observada a média de 1,52 para o bloco quente e 1,92 para o frio.

Tabela 8: Crescimento micelial (diâmetro médio em cm e porcentagem de inibição em relação à testemunha) de *Fusarium* sp., em meios quente e frio. Em placas de petri de 9 cm de diâmetro, contendo meio de cultura BDA + extrato aquoso em diferentes concentrações.

	Concentrações g/L										Médias de blocos
	Controle	1	%	5	%	10	%	15	%		
Quente	3,3	1,7	48	1,4	57	0,7	78	0,5	84	$\bar{x}_Q = 1,52a$	
Frio	3,3	1,7	48	1,6	51	1,5	54	1,5	54	$\bar{x}_F = 1,92b$	

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

Os resultados da análise de variância revelaram interação significativa entre os fatores extrato vegetal x concentrações e entre fatores quentes x frio. O extrato aquoso

quente apresentou diferença significativa a partir da concentração 10g/L, sendo que 15g/L inibiu 84% do crescimento micelial do fungo *Fusarium* sp. No extrato aquoso a frio não apresentou diferença significativa entre as concentrações, após sete dias, respectivamente, apresentando somente entre o controle (Figura 11).

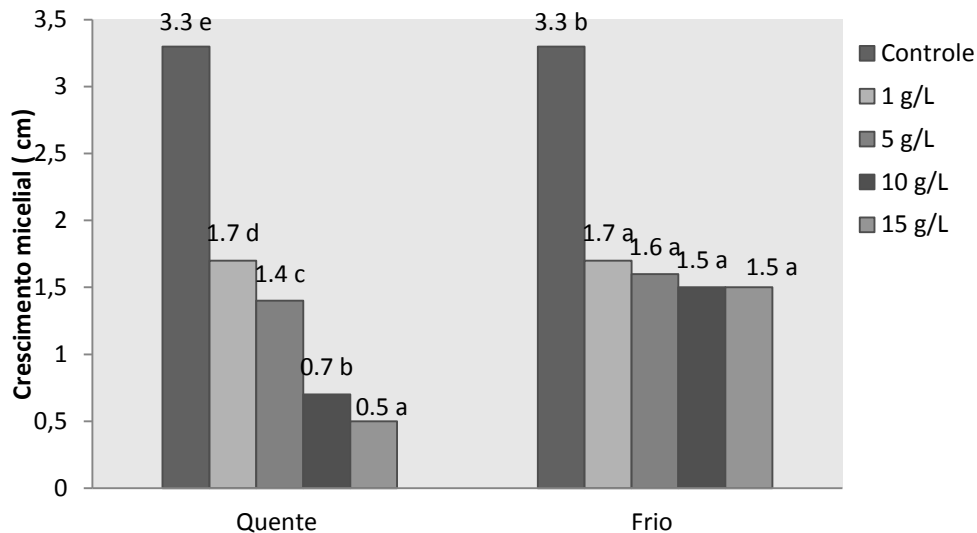


Figura 11: Crescimento micelial de *Fusarium* sp em diferentes concentrações do extrato aquoso de *Caryocar villosum*, as letras diferentes representam diferença estatística.

Foi constatado atividade fungicida com a utilização de extração a quente, nas concentrações 5, 10, 15g/L sobre o *Fusarium* sp. Em relação à inibição do crescimento micelial o extrato etanólico e metanólico apresentaram 90% de inibição, confirmando a presença de compostos secundários presentes nos respectivos extratos.

3.2. Efeito de extrato vegetal sobre a germinação de conídios de *Fusarium* sp.

Os resultados observados após as 16h mostraram que as concentrações testadas não inibiram 100% a germinação dos esporos de *Fusarium* sp. (Tabela 9). Em geral, os melhores resultados foram obtidos com extrato etanólico a quente, aquoso a quente e metanólico a frio.

Tabela 09: Porcentagem de inibição de germinação dos conídios de *Fusarium* sp. com diferentes concentrações do extrato etanólico.

Concentrações g/L						
Extrato etanólico	Controle	1	5	10	15	Média dos blocos
Quente	0	20 a	30 b	50 c	70 d	$\bar{x}_Q = 4,2$ a
Frio	0	14 a	17a	28b	42 c	$\bar{x}_F = 2,5$ b

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

Quando foi comparada a ação dos extratos quente e frio sobre a inibição da germinação dos conídios, a extração etanólico a quente conseguiu inibir média 50% na concentração 10g/L e 70% na concentração 15g/L. Quanto ao extrato a frio na concentração de 15g/L, obteve-se 42% de inibição. Verificou que o potencial de inibição é crescente em função do aumento da concentração, diferenciando entre tratamentos ($F = 86,26$; $p = 0,0001$) e blocos ($F = 90,28$; $p = 0,0001$) pela ANOVA, blocos inteiramente ao acaso com repetições, sendo observada a média de 4,2 para o bloco quente e 2,5 para o frio. Os resultados da análise de variância revelaram interação significativa entre os fatores extrato vegetal x concentrações e entre fatores quentes x frio.

Com relação ao extrato metanólico (Tabela 10), verificou-se eficiência na inibição de 55% na concentração 10g/L e 62% na concentração 15g/L, na extração metanólico a frio, diferindo do extrato metanólico a quente que alcançou inibição de 36% na concentração de 15g/L, confirmando aumento inibitório ao aumento da concentração diferenciando entre tratamentos ($F = 29,53$; $p = 0,0001$) e blocos ($F = 103,04$; $p = 0,0001$) pela ANOVA, blocos inteiramente ao acaso com repetições, sendo observada a média de 2,4 para o bloco quente e 4,8 para o frio. Os resultados da análise de variância revelaram não interação significativa entre os fatores extrato vegetal x concentrações e entre fatores quentes x frio.

Tabela 10: Porcentagem de inibição de germinação dos conídios de *Fusarium* sp com diferentes concentrações do extrato metanólico

Extrato metanólico	Concentrações g/L					Media dos blocos
	Controle	1	5	10	15	
Quente	0	10 a	21 a	32 a	36 a	$\bar{x}_Q=2,4a$
Frio	0	30 a	45 b	55 b	62 b	$\bar{x}_F=4,8b$

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

Observando os resultados com aos extratos aquosos (Tabela 11), pode-se se verificar que o extrato aquoso a quente proporcionou maior inibição, a partir de 1g/L com 35% de inibição, alcançando média de 60% de inibição na concentração 15g/L, inibindo a germinação de conídios do fungo *Fusarium* sp. Quanto ao extrato aquoso a frio os melhores resultados de inibição foi a partir da concentração 10g/L com 32%, revelando baixa eficiência quanto ao fitopatógeno.

Verificou que o potencial de inibição é crescente em função do aumento da concentração, diferenciando entre tratamentos ($F = 10,49$; $p = 0,0001$) e blocos ($F = 29,18$; $p = 0,0001$), blocos inteiramente ao acaso com repetições, sendo observada a média de 4,5 para o bloco quente e 2,9 para o frio. Os resultados da análise de variância revelaram não interação significativa entre os fatores extrato vegetal x concentrações e entre fatores quentes x frio.

Tabela 11- Porcentagem de inibição de germinação dos conídios de *Fusarium* sp. com diferentes concentrações do extrato aquoso.

Extrato Aquoso	Concentrações g/L					Média dos blocos
	Controle	1	5	10	15	
Quente	0	35 a	42 a	45 a	60 a	$\bar{x}_Q= 4,5a$
Frio	0	20a	24 a	32 a	41 a	$\bar{x}_F=2,9b$

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

A atividade antifúngica de extratos de folhas de *C. villosum* pode ser observada na Figura 12, verificando a média percentual de inibição na germinação dos conídios fitopatogênicos, onde o extrato etanólico e o aquoso a quente mostraram maior inibição ao aumento das concentrações.

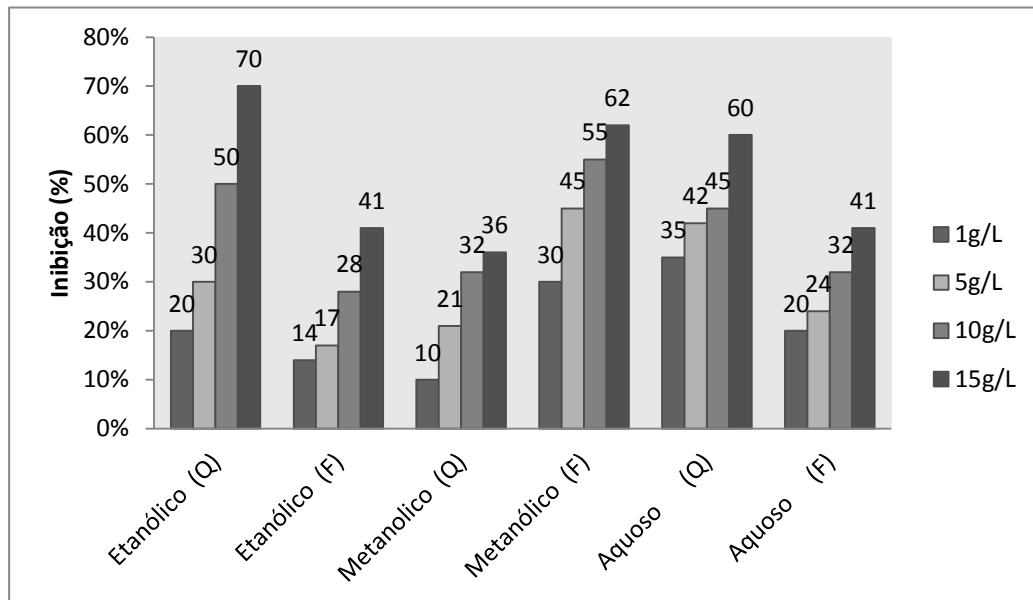


Figura 12: Inibição *in vitro* da germinação (%) de *Fusarium* sp. em diferentes concentrações em presença extrato quente e frio de *Caryocar villosum*.

O uso de extratos de plantas vem sendo apontado como uma alternativa promissora no manejo de doenças de plantas. Trabalhos anteriores realizados por Marques *et al.* (2002), demonstraram a atividade antifúngica *in vitro* de extratos de folhas de pequi, sobre *Botrytis cineria*, *Colletotrichum truncatum* e *Fusarium oxysporum*.

Estudos realizados por Hassanein *et al.* (2008) evidenciaram a eficácia de extratos etanólicos de folha do Nim (*Azadirachta indica*) na inibição do crescimento de *Alternaria* e *Fusarium oxysporum* em 50,44% e 100% respectivamente. O efeito dos extratos aquosos de folhas do Nim, jujuba (*Ziziphusspina-chisti* (L.) e *Zygophillum coccineum chisti* (L.) na concentração de 25% também foram testados, e apresentaram redução do desenvolvimento de *Fusarium solani* de 82,28%; 79,15% e 76,95% para os respectivos extratos (HAIKAL, 2007).

Diante desses resultados o presente trabalho teve por finalidade avaliar qual extrato e meio de extração, apresentaram maior concentração de substâncias antifúngicas.

Poucos experimentos foram realizados usando o extrato de pequi (*C. brasiliense*) do cerrado e de piquiá (*C. villosum*) da Amazônia no o controle de microrganismos. Os estudos disponíveis aplicam-se, basicamente, ao controle de doenças humanas. O extrato etanólico das folhas apresentou atividade contra sarcoma 180, que é um tipo de câncer de pele; obtendo-se por meio de análise cromatográfica as substâncias friedelina, friedelanol, ácido oleanólico, β -sitosterol, estigmasterol, β -amirina e ácido elágico (OLIVEIRA *et al.*, 1968). Azevedo-Meleiro e Rodriguez-Amaya (2004), avaliou uso na área cosmética do óleo de pequi conferindo proteção à pele impedindo a lipoperoxidação, evitando desta maneira a formação de radicais livres e consequentemente retardando envelhecimento cutâneo. Também foram demonstradas as atividades leishmanicida, antimicrobiana do extrato das folhas de pequi (PAULA-JUNIOR *et al.*, 2006). Resultados obtidos por Marques *et al.* (2002), na inibição da germinação de conídios de *Fusarium oxysporum* com extrato foliar do *C. brasiliense* foram semelhantes aos resultados obtidos na inibição do *Fusarium sp* com extrato de *C. villosum* típico da região Amazônia

4.CONCLUSÃO

- a) A extração etanólica a quente apresentou 90% de inibição no crescimento micelial de *Fusarium* sp. a partir da concentração de 5g/L.
- b) A extração etanólica a quente apresentou 70% de inibição na germinação dos conídios de *Fusarium* sp a partir da concentração de 10g/L.
- c) A atividade antifúngica dos extratos aumenta com o aumento da sua concentração no meio de cultura.

Portanto, constatou-se nesse trabalho que dentre os compostos presentes nas folhas de *C. villosum* encontram-se aqueles capazes de conter o avanço da fronteira micelial de fungos fitopatogênicos. Esses compostos podem ser obtidos por extração a quente alcoólica e aquosa. Porém, a extração a quente mostrou ser a mais indicada para essa finalidade por apresentar maior rendimento, maior atividade antifúngica além da simplicidade de operação, sem a necessidade de equipamento sofisticado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5 ed. Elsevier. Florida, 2005.
- ANDRADE JUNIOR, A. S. de; KLAR, A. E. **Manejo da irrigação da cultura de alface (*Lactuca sativa* L.) através do tanque classe A**. Scientia Agrícola, Piracicaba, vol.54, n.1-2, Jan./Aug.1997.
- AZEVEDO, L.A. S. **Fungicidas protetores**: fundamentos para o uso racional. Emopi Editora e Gráfica. Campinas, 2003.p.319.
- AZEVEDO-MELEIRO, C.H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. **J. Food Compos, Analysis**.v.17, n.3/4, p.385-396, 2004.
- BAUTISTA-BAÑOS, S.; HERMANDEZ L. M.; BOSQUEZ-MOLINA, E.; WILSON, C.L. Effects of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit. **Crop Protection**.v.22, p.1087-1092, 2003.
- BOWLES, D. J. Defense related proteins in higher plants. Annual **review of biochemistry**. Palo Aeto, v. 59, p. 837-907, 1990.
- CUNICO, M.M.; MIGUEL, O.G.; MIGUEL, M.D.; CARVALHO, J.L.S.; PEITZ, C.; STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S.; NOZAKI, M.H. Plantas Mediciniais e Controle Alternativo de Fitopatógenos. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v.11, p.16 -21. 2003.
- HASSANEIN, N. M. *et al.* Efficacy of leaf extracts of neem (*Azadirachta indica*) and chinaberry (*Melia azedrach*) against early blight and wilt diseases of tomato. **Australian Journal of Basic and applied Sciences**, Faisalabad, v. 2, n. 3, p. 763-772, 2008.
- KAIKAL, N. Z. Improving biological control of *Fusarium* root-rot in cucumber (*Cucumis sativus*) by allelopathic plant extracts. **International Journal of Agriculture e Biology**, Faisalabab, v. 9, n. 3, 2007. Disponível em: <[http:// www. Fspublishers.org/ijab/past-issues/ijabvol_9_no3/17. pdf](http://www.Fspublishers.org/ijab/past-issues/ijabvol_9_no3/17.pdf)>Acesso em 20 dez.de 2010.
- KIMATI, H. controle Químico. In: BERGAMIM FILHO, A.;KIMATI,H.; AMORIM, L. (ED.). Manual de Fitopatologia. Princípios e conceitos. 3 ed. São Paulo: Ceres 1997. V. 1.p. 761-785.
- MARQUES, R. P.; MONTEIRO, A. C.; Pereira G. T. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de Nim (*Azadirachta indica*). **Ciência Rural**, v.34, n.6, nov-dez, 2004.

MARQUES, M. C. S. *et al.* Efeito Fungitóxico dos extratos de *Caryocar brasiliense* Camb. sobre os fungos *Botrytis cineria*, *Coletotrichum truncatum* e *Fusarium oxysporum*. **Ciência agrotécnica**, Lavras. Edição especial, p. 1410-1419, dez., 2002.

MELGAR, J. ROY, K. N. E ABNEY, T. S. Sudden death syndrome of soybean: etiology, symptomatology, and effects of irrigation na heterodera glucines on the incidence and severity under field coditions. **Canadian Journal of Botany**, n. 72, p. 1647-1653, 1994.

MOREIRA M. R., PONCE A. G., DEL VALLE C. E., ROURA S. I. Inhibitory parameters of essential Oils to reduce a foodborne pathogen. **LWT**. v. 38,p. 565-570. 2004.

MYTLE N.; ANDERSON G. L.; DOYLE M.P.; SMITH M.A. Antimicrobial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil in inhibiting *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters. **Food Control**.v.17, p.102-107, 2004.

MOGHARBEL, A. D. I.; MASSON, M. L. Perigos associados ao consume da alface (*Lactuca sativa*), *in natura*. **Alimentação nutricional**, Araraquara. V. 16, n. 1, p. 83-88, jan./mar. 2005.

NELLY, D. Laboratory and greenhouse procedures methods for evaluation fungicides, nematocides and bactericides. **American Phytopathological Society, Minnessota**.1978. 140p.

OLIVEIRA, M. M.; GILBERT, B.; MORS, W. B. Triterpenes in *Caryocar brasiliense*. **Anais da Academia Brasileira de Letras**, Rio de Janeiro, v. 40, n. 4, p. 451-452 1968.

PAULA-JUNIOR, W.; ROCHA, F.H.; DONATTI, L.; FADELPICHETH,C.M.T.; WEFFORT-SANTOS, A.M.Leishmanicidal, antibacterial, and antioxidant activities of *Caryocar brasiliense* Cambess leaves hydroethanolic extract.**Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, suppl., p.625-630, 2006.

SALA, F. C.; COSTA, C.P. 'Piraroxa': cultivar de alface crespa de corvermelha intensa. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.1, p.158-159, jan./mar. 2005.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sendo a espécie *C. villosum* uma planta tipicamente amazônica e com várias propriedades terapêuticas, algumas descritas na literatura e outras baseadas apenas em relatos populares, sugere-se para trabalhos futuros:

- 1- A realização de análises fotoquímicas para o isolamento dos compostos secundários que estão atuando na inibição do crescimento micelial do *Fusarium* sp.
- 2- Aplicação dos extratos em larga escala nas lavouras de hortaliças contaminadas pelo fitopatógeno.
- 3- Aplicação do extrato em menores concentrações e a extração do extrato bruto com diferentes solventes orgânicos não trabalhados desta dissertação;

APÊNDICE

Análise de variância dos dados apresentados na Tabela 6

Causa de variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	4	26.15	6.5378	25.45
Blocos	1	0.588	0.588	22.61
Interação	4	0.4287	0.1072	4.12
Resíduo	20	0.522	0.026	
Total	29	27,6895	7,259	

Análise de variância dos dados apresentados na Tabela 7

Causa de variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	4	30.52	7.6308	183.14
Blocos	1	0.867	0.867	20.808
Interação	3	0.5513	0.1378	3.308
Resíduo	20	0.8333	0.0417	
Total	28	32,7716	8,6773	

Análise de variância dos dados apresentados na Tabela 8

Causa de variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	4	19.7687	4.9422	251.29
Blocos	1	1.0083	1.0083	51.27
Interação	4	1.6433	0.4108	20.88
Resíduo	20	0.3933	0.0197	
Total	29	22,8136	6,381	

Análise de variância dos dados apresentados na Tabela 9

Causa de variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	3	177.0694	59.0231	86.26
Blocos	1	61.7761	61.7761	90.28
Interação	3	16.9844	5.6615	8.27
Resíduo	72	49.265	0.6842	
Total	79	305,0949	127,1449	

Análise de variância dos dados apresentados na Tabela 10

Causa de variação	GL	SQ	QM	<i>F</i>
Tratamentos	3	94.969	31.6563	29.53
Blocos	1	110.45	110.45	103.04
Interação	3	1.017	0.339	0.3163
Resíduo	72	77.174	1.0719	
Total	79	283,61	143,5172	

Análise de variância dos dados apresentados na Tabela 11

Causa de variação	GL	SQ	QM	<i>F</i>
Tratamentos	3	57.8424	19.2808	10.49
Blocos	1	53.6281	53.6281	29.18
Interação	3	1.1864	0.3955	0.2152
Resíduo	72	132.297	1.8375	
Total	79	248,9475	75,1491	

ANEXOS
PUBLICAÇÕES



26º Congresso Brasileiro de Microbiologia

de 2 a 6 de outubro de 2011

Rafain Palace Hotel e Convention Center

Foz do Iguaçu - Paraná

II Encontro Nacional de Professores de Microbiologia - ENAPROM

International Society for Microbial Ecology - Latin America ISME Symposium 2011

Simpósio Internacional de Bactérias Láticas

ESPÉCIE AMAZÔNICA COM POTENCIAL FUNGICIDA FRENTE A FUNGO FITOPATÓGENO QUE ATACA HORTALIÇAS NO MUNICÍPIO DE PARINTINS-AM

Autores: VALENTE, P.M.R.; **SOARES, E.P.**; NUNES, A.S.; ARAUJO, S.P.; GALUCIO, V.A.; ROCHA, E.M.; SCUDELLER, V.V.; CASTRO E SILVA, A.; MELO, J.L.

1. Universidade do Estado do Amazonas. 2. Centro de Estudos Superiores de Parintins/AM.

Resumo

Introdução: Nas últimas décadas vem se utilizando alternativas menos agressivas de controle de pragas agrícolas garantindo o controle de doenças e a sustentabilidade da atividade agrícola. O fungo *Fusarium* sp. causa grande prejuízo as culturas de hortaliças e respectivamente a outras espécies agrícolas causando prejuízo econômico. No município de Parintins-Am, produtores de hortaliças sofrem o ataque desses fitopatógenos, comprometendo sua produção e deixando em risco a saúde da população. A diversidade de espécies vegetais na Amazônia torna importante a investigação de novas moléculas químicas capazes de serem utilizadas como controle biológico amenizando a agressão ao meio ambiente. O *Caryocar villosum* é uma espécie bastante encontrada na Amazônia Central, sendo conhecida regionalmente como piquiá. As folhas, casca da árvore e polpa do fruto são ricas fontes de taninos. Estas substâncias contribuem para a defesa das plantas contra o ataque de insetos e tem sido relacionada com inibição do crescimento de microrganismos. O estudo teve como objetivo desenvolver pesquisa em torno da planta Amazônica com potencial fungicida, capaz de realizar controle biológico, e tornando menos agressivo ao meio ambiente. **Material e método:** O trabalho utilizou folhas coletadas de uma população de piquiá (*Caryocar villosum* (Aubl)/.Pers), coletada no município de Parintins no Estado do Amazonas. As amostras das folhas foram pesadas e secas em estufa a 30°C, em seguida moídas. Na realização dos testes com o extrato do *C. villosum*, o extrato bruto das folhas foi obtido através do método de extração à quente. As amostras dos patógenos foram obtidas de folhas apresentando sintomas de fusariose em plantas comerciais. Os patógenos foram cultivados em placa de petri em meio de cultura BDA (batata-dextrose-agar). A atividade antifúngica das concentrações do extrato foliar foi avaliada através da inibição do crescimento miceliano do patógeno. Utilizou-se o extrato foliar da espécie vegetal nas concentrações de 1, 10, 100 e 1000 µg/mL-1. A avaliação do efeito das diferentes concentrações do extrato foliar sobre o crescimento miceliano foi realizada quando o crescimento da testemunha cobriu totalmente a superfície do meio de cultura. **Resultados e Discussão:** Constatou-se que o extrato de *C. villosum* nas concentrações 10, 100 e 1000 µg/mL-1 testadas inibiram em 100% a germinação dos esporos de *Fusarium* sp. Sete dias após a avaliação verificou-se que os esporos permaneceram sem germinar, não ocorrendo, conseqüentemente, o crescimento micelial do fungo e, comprovando-se, portanto, o efeito fungicida do extrato foliar. Na concentração 1µg/mL-1 não houve crescimento micelial, constatando que a concentração é baixa para inibição do patógeno. **Conclusão:** O extrato bruto foliar obtido do *Caryocar villosum* apresenta potencial fungicida.



26º Congresso Brasileiro de Microbiologia

de 2 a 6 de outubro de 2011

Rafain Palace Hotel e Convention Center

Foz do Iguaçu - Paraná

II Encontro Nacional de Professores de Microbiologia - ENAPROM

International Society for Microbial Ecology - Latin America ISME Symposium 2011

Simpósio Internacional de Bactérias Láticas

SECREÇÃO DE LIGNINA PEROXIDASE (LiP) E MANGANÊS PEROXIDASE (MnP) POR FUNGOS AMAZONICOS COM POTENCIAL PARA DEGRADAR POLIETILENO TEREFTALATO.

Autores: SOARES, E.P; ANDRADE, F.S; NUNES, A.S; SILVA, A.V, SANTOS, I.C.C; VALENTE, P.M.R; GALÚCIO, V.A; CASTRO E SILVA.

1.Universidade do Estado do Amazonas. 2. Centro de Estudos Superiores de Parintins/AM.

Resumo

Introdução: Os fungos envolvidos na degradação das ligninas secretam diferentes enzimas extracelulares que catalisam reações que levam a degradação do polímero. As mais importantes são as ligninas peroxidases (LiP), manganês peroxidase (MnP) e a lacase. Desta forma, surge o potencial fúngico ainda inexplorado da região do Baixo Amazonas, como alternativa para a degradação do polietileno tereftalato (PET). Essa região, sem ação antrópica mais contundente guarda ainda espécies fúngicas com potencial enzimático capaz de participar em vários processos industriais. Urge, portanto, a necessidade de prospecção dessa biodiversidade na busca de microorganismos capazes de produzir enzimas específicas com potencial para uso em aplicações biotecnológicas, em particular na degradação do PET.

Material e métodos: Foram utilizadas três linhagens fúngicas da classe dos Basidiomicetos: *Pycnoporussanguineus*, FV12, FBL e o consórcio entre os mesmos. Para a realização dos testes de degradação do polímero foi utilizado meio contendo 20g farinha da casca de tucumã (*Astrocaryumaculeatum* Meyer) e 500ml de água destilada. Amostras de PET foram preparadas previamente (corte 1x1cm, peso e assepsia) e submetidas à temperatura de 35°C, em estufa durante 72 horas e como controle foram utilizados partículas de polímeros sem tratamento físico. Erlenmeyers de 125 ml receberam 50ml do meio previamente autoclavado, 5 amostras dos polímeros e os microrganismos em estudo, e incubados à 30° C. A determinação enzimática foi avaliada através de filtrados de enzima bruta obtido em fermentação submersa estacionária durante 30 dias. Para a atividade de LiP utilizou-se o método proposto por Tien-Kirk (1984) e a atividade de MnP foi baseada na metodologia de GLEN *et al.*, (1986); AITKEN & IRVINE, (1990). **Resultado e discussão:** Após 30 dias de fermentação submersa a atividade de LiP e MnP não apresentaram diferença estatística a nível de 5% de significância no teste de ANOVA entre os ensaios PET +28°C e PET 35°C. Em média a atividade de LiP foi 56,2 U.L⁻¹ para o controle e 55,2 U.L⁻¹ para o tratamento, enquanto que a MnP foi 61,8 U.L⁻¹ para o ensaio PET +28°C e 61,3 U.L⁻¹ para os ensaios PET 35°, tanto em testes individuais com em consórcios de fungos. Quanto aos testes para verificação de perda de massa do polímero o consórcio Pyc+FBL foi o que apresentou maior perda (28,7%), enquanto que a atividade de LiP com este consórcio, verificou-se que a maior atividade ocorreu com o tratamento (57,1 U.L⁻¹) e para a atividade de MnP o melhor resultado foi para o tratamento com a linhagem FBL (64,1 U.L⁻¹). **Conclusão:** Nos bioensaios realizados com as linhagens fungicas amazônicas verificou-se que todas apresentaram potencial para a produção de enzimas lignases, LiP e MnP no meio composto de farinha de tucumã, independente da perda de massa do polímero.



PRODUÇÃO DE BIOMASSA POR FUNGOS AMAZONICOS UTILIZANDO CHORUME COMO FONTE DE CARBONO

Autores: SOUZA, P. L, NUNES, A.S, **SOARES, E.P**, VALENTE, P.M.R, SILVA, A.V, GALÚCIO, V.A, CASTRO E SILVA, A, KATAK, R.M.

1. Universidade do Estado do Amazonas. 2. Centro de Estudos Superiores de Parintins/AM.

Resumo

Introdução: O lixo urbano é um dos problemas ambientais mais preocupantes da atualidade, por sua produção acelerada e seu descarte na maioria das vezes indiscriminado em locais inapropriados causando impactos negativos ao meio ambiente e a população, pela presença do chorume, líquido percolado de alta toxicidade e odor desagradável gerado a partir da biodeterioração da matéria orgânica. Pesquisas recentes utilizando fungos de podridão branca evidenciam a versatilidade destes microorganismos em biodeteriorar a matéria orgânica e até inorgânica, apresentando-se como potenciais degradadores deste líquido rico em metais potencialmente tóxicos. A exploração da atividade dos microrganismos é a principal estratégia utilizada em tratamento biológico para recuperação de ambientes poluídos e a Amazônia mostra-se como um enorme laboratório capaz de fornecer fungos capazes de degradar chorume. Portanto, o presente projeto visou avaliar fungos amazônicos com potencial para produção de biomassa em meio acrescido de diferentes concentrações de chorume. **Material e métodos:** Carpóforos de fungos basidiomicetos foram coletados na região de Parintins/Am, codificados em FV-12, FI-02 e *Pycnoporus sanguineus*. Para produção de biomassa fúngica foi utilizado meio contendo água estéril e chorume (total 150 mL) nas concentrações 1%, 2% e 4% em erlenmeyer de 250 mL coletado no lixão de Parintins, previamente esterilizado a 121°C, centrifugado e oxigenado. A produção de massa micelial foi avaliada pelo crescimento em meio líquido em condição estacionária, em período de 60 dias à 30°C, utilizando-se o método de filtragem alíquota em papel filtro para quantificação em porcentagem da biomassa produzida. **Resultados e discussão:** Em valores absolutos a maior produção de biomassa fúngica em meio acrescido de chorume ocorreu para a linhagem de *Pycnoporus sanguineus* na concentração 2% (2,27%), seguida da linhagem FI-02 na concentração 1% (2,04%) e de *Pycnoporus sanguineus* na concentração 4% (1,86%). A menor produção foi da linhagem FV-12 na concentração 1% (0.70%). No teste de ANOVA ao nível de 5% não houve diferença estatística entre os tratamentos. **Conclusão:** Todas as linhagens fúngicas amazônicas testadas apresentaram crescimento positivo em meio contendo apenas chorume in natura como fonte de carbono. Com destaque para o fungo *Pycnoporus sanguineus*, possível degradador de compostos recalcitrantes do chorume.



SECREÇÃO DE LACASE POR FUNGOS AMAZÔNICOS UTILIZANDO MEIO ACRESCIDO COM CHORUME IN NATURA

Autores: NUNES, A.S, SOUZA, P.L , CASTRO E SILVA, A , **SOARES, E.P** , VALENTE, P.M.R, SANTOS, I.C.C, MELO, J.L.

1.Universidade do Estado do Amazonas. 2. Centro de Estudos Superiores de Parintins/AM.

Resumo

Microorganismos como fungos e bactérias têm tomado destaque nos últimos anos, no que diz respeito à recuperação ou minimização de áreas contaminadas por metais potencialmente tóxicos. Pesquisas recentes mostram que enzimas oxidativas produzidas por fungos basidiomicetos de decomposição branca estão envolvidas na degradação e mineralização de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, herbicidas, corantes azo, polifenóis entre outros. Podendo representar uma alternativa viável na degradação de compostos recalcitrantes presentes no chorume, devido ao seu complexo e diversificado potencial enzimático. Os fungos da região amazônica são em sua magnitude desconhecidos em relação à sua vasta região territorial e riquezas naturais apresentando-se como potenciais deterioradores de substâncias potencialmente tóxicas, como o chorume. Portanto, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a atividade da enzima Lacase produzida por fungos da Amazônia em meio acrescido de chorume proveniente do lixão municipal de Parintins/Am. Linhagens de fungos basidiomicetos codificados em: FV-12, FI-02 e *Pycnoporussanguineus* foram utilizadas nos tratamentos enzimáticos em meio acrescido das concentrações 1%, 2% e 4% de chorume. As culturas foram incubadas em BOD à 30° C durante 60 dias e sua determinação enzimática realizada em espectrofotômetro. O controle foi realizado com a ausência de chorume. A mistura reacional foi composta de 50 µL da amostra filtrada; 0,95 mL tampão tartarato de sódio pH 4,5; 0,1mL seringaldazina e 0,1mL de água destilada, sendo monitorado o aumento da absorbância em 525 nm durante 60 segundos, utilizando-se o coeficiente de extinção $\epsilon = 6,5 \times 10^4 \text{ cm}^1 \cdot \text{M}^{-1}$. De modo geral a enzima lacase foi produzida tanto no controle quanto nos tratamentos com chorume. A linhagem FV-12 apresentou no controle 1.14 U/L⁻¹, paralelamente na concentração 2% apresentou 1.70 U/L⁻¹, seguida da concentração 1% com 1,20 U/L⁻¹ e 1,14 U/L⁻¹ na concentração 4%. Para as demais linhagens a atividade não foi significativa. Ao nível de 95% de probabilidade não houve diferença na atividade enzimática entre as três linhagens testadas. Todos os fungos testados apresentaram potencial para produção de lacase em estado de fermentação líquida nas concentrações 1%, 2% e 4% de chorume, com destaque para a linhagem FV-12.



AVALIAÇÃO DE ENZIMAS OXIDATIVAS PRODUZIDAS POR FUNGOS AMAZÔNICOS EM BIORREATOR DE COLUNA UTILIZANDO RESÍDUO AGRO-INDUSTRIAL

Autores: TAVARES, B. P; NUNES, A.S; **SOARES, E.P;** CASTRO E SILVA, A; SOUZA, E.A; TRINDADE, D.B; DIAS, R.A; MELO, J.L; VALENTE, P.M.R.

1.Universidade do Estado do Amazonas. 2. Centro de Estudos Superiores de Parintins/AM.

Resumo

Introdução: Da decomposição da matéria orgânica e inorgânica resulta o chorume, líquido viscoso, de odor forte e desagradável, que apresenta em sua composição metais potencialmente tóxicos e compostos recalcitrantes danosos ao homem e ao ecossistema como um todo. Podendo atingir lençóis freáticos, rios e córregos, levando a contaminação destes recursos hídricos. Nesse contexto, tratamentos biológicos utilizando enzimas fúngicas têm apresentado êxito na degradação ou mineralização de compostos de elevada massa molecular. No que diz respeito a região amazônica pouco ou quase nenhum estudo nessa área tem sido realizado com os fungos dessa região, que possivelmente apresentam potencial para aplicações em biorremediação ambiental. Portanto o objetivo dessa pesquisa foi avaliar um fungo amazônico e seu potencial para degradação do chorume obtido do lixão a céu aberto do município de Parintins/AM em sistema de biorreator de coluna acrescido de resíduo agro-industrial. **Material e métodos:** O experimento ocorreu em colunas de 20x4cm, utilizando uma linhagem de fungo Basidiomiceto, codificado em FI-03. Fragmentos foram incubados em colunas contendo 20g do resíduo agroindustrial (cana-de-açúcar ou casca de tucumã). O sistema foi suplementado com 20ml de chorume previamente autoclavado, centrifugado e oxigenado. As colunas foram mantidas a 30°C e oxigenadas a cada 12 horas por um período de 100 dias. A leitura enzimática foi realizada em espectrofotômetro sendo monitorado o aumento da absorbância em 525 nm durante 60 segundos para Lacase, 270 mn para Mn-Peroxidase e 310 nm para Li-Peroxidase. **Resultados e discussão:** O resíduo da casca de tucumã apresentou uma perda de massa de 37,75% e o bagaço cana-de-açúcar 22,75%. Na análise da atividade enzimática, Li-P nos resíduos da casca de tucumã e bagaço de cana-de-açúcar apresentou atividade de 52,80 U/L⁻¹ e 30,22 U/L⁻¹ respectivamente, seguida da atividade de Mn-Peroxidase em casca de tucumã com 11,11 U/L⁻¹ e bagaço de cana-de-açúcar 9,80 U/L⁻¹. Já a atividade de Lacase foi registrada em 0,185 U/L⁻¹ no resíduo da casca do tucumã e em 0,492 U/L⁻¹ no bagaço de cana-de-açúcar. **Conclusão:** O fungo amazônico apresentou potencial para produção de enzimas oxidativas (L.Peroxidase, M. Peroxidase e Lacase) nos dois resíduos agroindustriais testados, podendo atuar em processos de biorremediação ambiental como a degradação de compostos recalcitrantes do chorume.



26° Congresso Brasileiro de Microbiologia
de 2 a 6 de outubro de 2011
Rafain Palace Hotel e Convention Center
Foz do Iguaçu - Paraná

II Encontro Nacional de Professores de Microbiologia - ENAPROM
International Society for Microbial Ecology - Latin America ISME Symposium 2011
Simpósio Internacional de Bactérias Láticas

CRESCIMENTO MICELIAL E DESCOLORAÇÃO DO CORANTE ALARANJADO DE METILA POR FUNGOS DA AMAZÔNIA.

Autores: SOUZA, E.G; NUNES, A.S; GALUCIO, V.C.A; **SOARES, E.P;** VALENTE, P.M.R; TRINDADE, D.B; CASTRO E SILVA.

1. Universidade do Estado do Amazonas. 2. Centro de Estudos Superiores de Parintins/AM.

Resumo

Introdução: Os processos industriais de tingimento de tecidos e a obtenção da celulose são atividades que produzem uma grande quantidade de resíduos sólidos, líquidos e gasosos, extremamente daninhos ao meio ambiente por conterem metais potencialmente tóxicos como cloroligninas e clorofenóis. Por apresentarem enorme habilidade para oxidar especificamente compostos fenólicos, por meio de seus diversificados sistemas enzimáticos os fungos de podridão branca vêm sendo cada vez mais utilizados para biorremediação dos ecossistemas em geral através da degradação de compostos recalcitrantes. O grande potencial fúngico existente na região amazônica vem estimulando cada vez mais o aprofundamento e as novas descobertas da biotecnologia que se faz necessário devido o vasto campo de atuação desses organismos. Dessa maneira o objetivo desta pesquisa foi avaliar o crescimento micelial de fungos amazônicos e seu potencial de descoloração do corante metilorange em estado de fermentação semi-sólida. **Metodologia:** Foram utilizadas seis linhagens de fungos: **Pycnoporussanguineos**, FV-12, FI-2, FI-3, FV-6, FI-9, FI-11, CV-29 e FBL. O meio de cultivo foi composto de 500 mL de água destilada estéril, 7,5 g de ágar e corante metilorange na concentração de 0,0002%. Fragmentos fúngicos de 5 mm de diâmetro foram inoculados no centro da placa de Petri e incubados a 30°C no escuro. A avaliação do crescimento foi realizada através da progressão da fronteira micelial a cada 24 horas por um período de 15 dias. **Resultados e discussão:** Em valores absolutos o maior crescimento ocorreu para a linhagem FI-3 (3,76cm) seguido de *P. sanguineus* (3,52cm), FI-2 (3,50cm) e FI-11 (2,77cm) respectivamente. Os menores crescimentos foram das linhagens FV-6 (2,24cm) e CV-29 (2,28cm). As linhagens FI-02, FI-03, FBL e *Pycnoporus sanguineos* apresentaram descoloração total em um período de 5 dias em estado de fermentação semi-sólida, seguidas das linhagem FI-11 em um período de 12 dias e o FV-12 em 13 dias. De acordo com teste ANOVA ao nível de 95% de probabilidade não houve diferença estatística entre os tratamentos. **Conclusão:** Das nove linhagens de fungos testadas seis apresentaram potencial para aplicação em bioprocessos de remoção de cor de efluentes têxteis em baixas concentrações ou no tratamento de outros resíduos sólidos coloridos, Porém, ainda existe a necessidade de um amplo conhecimento tecnológico para o aproveitamento desses organismos e suas estruturas.



CONSORCIO DE FUNGOS AMAZONICOS PARA A PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTES.

Autores: SILVA, A.V; **SOARES, E.P;** NUNES. A.S; ARAUJO S.P; VALENTE, P.M.R;
GALUCIO, V.A; SOUZA, E.A; MELO, J.L; CASTRO E SILVA, A.

1.Universidade do Estado do Amazonas. 2. Centro de Estudos Superiores de Parintins/AM.

Resumo

Introdução: Atualmente, a grande maioria dos surfactantes disponíveis é sintetizada a partir de derivados do petróleo, entretanto, as novas legislações de proteção ao meio ambiente, bem como, a preocupação ambiental entre os consumidores tem elevado a procura por surfactantes naturais como alternativa aos produtos existentes. As vantagens dos biosurfactantes quando comparados aos quimicamente sintéticos reside na biodegradabilidade, baixa toxicidade, biocompatibilidade, digestibilidade e produção econômica aceitável, tornando os biosurfactantes adequados para várias aplicações industriais. Neste sentido, a região do Baixo Amazonas apresenta-se como um grande laboratório, com uma biodiversidade fúngica em sua magnitude ainda inexplorada que apresenta possibilidades de aplicações nos mais diversos setores industriais. Portanto, o presente resumo visa avaliar a produção de biosurfactante por fungos amazônicos com a utilização de polímeros sintéticos em meio suplementado com resíduo agroindustrial. **Material e métodos:** Para os ensaios foram utilizados consórcio de três fungos Basidiomicetos: *Pycnoporus sanguineus*, FV12, FBL, os quais foram incubados em meio de cultivo contendo 20g farinha da casca de tucumã (*Astrocaryum aculeatum Meyer*) e 500ml de água destilada. Amostras do polietileno tereftalato PET foram submetidas à temperatura de 35°C, em estufa durante 72 horas e como controle foram utilizadas partículas de polímeros sem tratamento físico. Erlenmeyers de 125 ml receberam 50ml do meio, 5 amostras dos polímeros e os fungos em estudo, e incubados à 30° C. As atividades de emulsificação foram determinadas através de agitação vigorosa em agitador magnético de tubos de 3,5 ml de caldo de cultura previamente filtrado em lâ de vidro e 2,0 ml de hidrocarboneto de tolueno. Após 1 hora, a densidade óptica da emulsão óleo em água foi medida em espectrofotômetro a 610 nm. Após 24 horas, as emulsões água em óleo foram expressas em centímetros relativos à altura do halo e compactação máxima das bolhas formadas. **Resultado e discussão:** De modo geral, todos os fungos mostraram-se capazes de produzir biosurfactantes após 30 dias de fermentação submersa estacionária. A maior atividade de emulsificação ocorreu com o consórcio Pyc+FBL (Abs:0,802) para o ensaio PET +28°C. Em média a atividade de emulsificação com os consórcios foi 0,33 e 0,12 de absorvância para o teste PET +28°C e PET 35°C respectivamente. A maior formação do halo ocorreu com o consorcio dos fungos Pyc+FBL+FV12 (PET +28°C) e para Pyc+FBL (PET 35°C) com 3 cm respectivamente. **Conclusão:** A presença de biosurfactantes no meio de cultura composto por farinha de tucumã pode estar favorecendo a utilização dos substratos plásticos como fonte de energia para os microorganismos, tornando os polimeros mais acessíveis ao processo de degradação.



AVALIAÇÃO DE FUNGOS AMAZONICOS COM POTENCIAL PARA DEGRADAÇÃO DO POLIETILENO TEREFALATO – PET

Autores: SOARES, E.P; SILVA, A.V; NUNES, A.S; SOUZA, P.L; ARAUJO, S.P; VALENTE, P.M.R; MELO, J.L; CASTRO E SILVA.

1.Universidade do Estado do Amazonas. 2. Centro de Estudos Superiores de Parintins/AM.

Resumo

Introdução: Pesquisas comprovam a eficácia da utilização de microorganismos para degradar embalagens plásticas, ou pelo menos parte delas, em especial o polietileno tereftalato que apresenta-se como um dos principais causadores de impactos ambientais. Sendo de grande importância o estudo das condições ótimas de crescimento dos microorganismos aliado à combinação de outros fatores físico-químicos que podem auxiliar ou maximizar o processo de degradação (temperatura, pH, luz UV, entre outros). Portanto, este trabalho tem como objetivo avaliar fungos amazônicos com potencial para degradar polietileno tereftalato(PET).

Metodologia: Três amostras de fungos Basidiomicetos coletados em Parintins/AM: *Pyc. sanguineus*, FV12, FBL e o consórcio entre os mesmos foram utilizados para os testes de degradação do polímero em meio contendo 20g farinha da casca de tucumã (*Astrocaryumaculeatum Meyer*) e 500ml de água destilada. As amostras do polímero PET foram preparadas previamente (corte 1x1cm, peso e assepsia) e submetidos à temperatura de 35°C, durante 72 horas e como controle foram utilizados partículas de polímeros sem tratamento físico. Erlenmeyers de 125 ml receberam 50ml do meio, 5 amostras dos polímeros e os microrganismos em estudo, e após autoclavados foram incubados à 30° C. A degradação do PET foi avaliada em fermentação submersa estacionária durante 30 dias. Após o período de incubação, a determinação da perda de massa dos polímeros foi baseada na metodologia ASTM D5247-92 (1992) que consiste na análise da diferença do peso final menos o peso inicial. **Resultados:** Em termos absolutos o maior percentual de perda de peso no tratamento com PET (+28°C) ocorreu para o consórcio Pyc+FBL (28,7%). No tratamento individual o maior percentual ocorreu para *Pyc. sanguineus* (11,4%) e o menor para FV12 (0,40%). Nos testes com PET 35°C o consórcio Pyc+FBL também apresentou o maior percentual de perda de massa (19,7%), porém, 45,6% menor do que no teste PET +28°C. Neste tratamento ocorreu um aumento na perda de massa para todos os ensaios individuais sendo 33%, 41% e 420% para *Pyc. sanguineus*, FBL e FV12 respectivamente. Por outro lado, o consórcio no tratamento PET 35°C apresentou um menor percentual de perda de massa para Pyc+FBL+FV12 e PYC+FBL, 58,1% e 45,7% respectivamente. Exceção para o consórcio de fungos Pyc+FV12 onde a perda de massa foi 3,9 vezes maior no tratamento PET 35°C.

Conclusão: Todos os fungos amazônicos testados apresentaram potencial para degradar o polietileno tereftalato, sendo que os testes “consórcios” com PET sem tratamento físico apresentou maior perda de massa do polímero. De uma forma geral, o meio composto da farinha de tucumã possivelmente influenciou o processo de degradação do PET, visto que apresenta requisitos nutricionais para o crescimento fúngico.



**AÇÃO DOS EXTRATIVOS DA MADEIRA AMAZÔNICA *TABEBUIA SERRATIFOLIA* (VAHL.)
G.N. NICHOLS- BIGNONIACEAE CONTRA FUNGOS DO GÊNERO *FUSARIUM* SP PREJUDICIAIS À
PRODUÇÃO DE HORTALIÇAS DE PEQUENOS PRODUTORES DA REGIÃO DO BAIXO AMAZONAS.**

Autores: MATOS, R., E.; VALENTE, P. M. R.; KATAK, M. R.; CASTRO E SILVA, Ademir ;

1. Acadêmico -Licenciatura em Biologia-UEA 2. Mestranda - Biotecologia e Recursos Naturais-UEA 3. Acadêmico -Licenciatura em Biologia- UEA 4. Prof. Dr./ Orientador- Depto de Biotecnologia e Recursos Naturais –UEA

INTRODUÇÃO: Diversos gêneros e espécies de fungos provocam danos a plantações de hortaliças no mundo inteiro. No Brasil isso não é diferente. Na Amazônia o problema se agrava devido o clima ser quente e úmido característico dessa região tropical que favorece crescimento desses microrganismos. Na região do baixo Amazonas a maior porcentagem dos produtores de hortaliças são os ribeirinhos que muitas vezes têm em suas plantações a única fonte de renda de suas famílias. Quando as plantações são atacadas por esses fitopatógenos os prejuízos são inúmeros. O combate a essas pragas microscópicas se dá por meio de aplicação frequente de fungicidas que apesar de mostrarem eficiência, e até uma certa resistência, são de grande perigo para o meio ambiente, para o vegetal e ao homem, em função dos compostos químicos altamente tóxicos que o constituem. Por outro lado, biomoléculas encontradas em várias partes de um vegetal, como por exemplo, o xilema de madeiras, podem contribuir para a formação de um produto de origem natural onde esses elementos podem auxiliar no combate a fungos fitopatogênicos sem trazer grandes prejuízos para o meio ambiente ao homem. O presente trabalho, portanto, teve por objetivo testar os extrativos da madeira ipê como potencial fungicida para ajudar o pequeno produtor de hortaliças da região do baixo Amazonas.

METODOLOGIA: Para o isolamento dos fitopatógenos, pedaços de tecido foliar de 0,5mm de diâmetro foram retirados de lesões, na região entre a área lesionada e a área sadia. Esses fragmentos foram levados para o laboratório de biologia do CESP sendo desinfetados com álcool 70% durante 30 segundos e hipoclorito e enxaguados três vezes em água destilada estéril. Em seguida, estes pedaços de tecido foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura BDA sendo incubadas por sete dias, sob fotoperíodo de 12h e temperatura de 25°C. Após esse período, foi feito o processo de repicagem para obtenção da cultura pura. A manutenção dos isolados foi realizada pelo armazenamento das placas com cultura pura a 5°C (Ribeiro e Bedendo, 1999). Para o preparo dos extratos a madeira *Tabebuia serratifolia* foi coletada nas madeiras do município de Parintins/Am, sendo seu extrato obtido pelo processo de maceração a frio utilizando etanol como solvente. Posteriormente 20mg de extrato foram diluídos em etanol nas concentrações 0,5; 0,15; 0,10 e 0,05 mg/mL, e em seguida adicionados em placa de Petri em meio contendo apenas Agar. Todo teste foi realizado em triplicata. O crescimento micelial foi avaliado a cada 24 horas através da mensuração do avanço da fronteira micelial. **RESULTADOS:** O crescimento micelial ocorreu no meio controle de etanol, não havendo crescimento nos meios acrescidos de extrativos nas diversas concentrações testadas. Os resultados observados mostraram que o extrato vegetal e todas as concentrações testadas inibiram em 100% a germinação dos esporos de *Fusarium* sp. Após sete dias de crescimento, verificou-se que os esporos permaneceram sem germinar, comprovando-se, portanto, o efeito fungicida do extrato vegetal. **CONCLUSÃO:** O extrato bruto obtido do cerne da madeira de amazônica *Tabebuia serratifolia* apresenta potencial fungicida contra *Fusarium* sp.

Palavras-chave: Madeira da Amazônia, Extrativos de madeira, Fungicida natural.