



Extrato etanólico de *Senna alata* no controle de *Fusarium oxysporum*, causador da murcha-de-fusarium do meloeiro

Erika V. de Medeiros¹, Marcelino G. Viana², Cynthia C. de Albuquerque³,
Francisco A. Viana³ & Kathia M. B. e Silva⁴

RESUMO

A murcha-de-fusarium, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum*, vem-se tornando uma doença importante no meloeiro devido às grandes perdas em áreas de produção no Brasil e no mundo, razão pela qual o objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficácia de extratos etanólicos de partes de *Senna alata* no controle do crescimento micelial de *F. oxysporum* isolado de plantas de meloeiro. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, distribuído em esquema fatorial 4 x 6 + 1, sendo o primeiro fator partes da planta (caule, folha, raiz e vagem) e, como segundo, seis concentrações (0,25; 0,50; 50; 75; 250; 500 µg mL⁻¹) mais a testemunha, com quatro repetições por tratamento. As variáveis avaliadas foram: taxa de crescimento micelial, inibição do crescimento micelial e área abaixo da curva do crescimento micelial. Extratos etanólicos de todas as partes de *Senna alata* foram eficazes no controle de *F. oxysporum*. Extratos de raiz e vagem foram os mais eficientes em inibir o crescimento micelial de *F. oxysporum*, na concentração 500 µg mL⁻¹.

Palavras-chave: fungicida vegetal, atividade antimicrobiana, *Cucumis melo*

Ethanol extract of *Senna alata* in control of *Fusarium oxysporum* responsible for fusarium wilt in melon

ABSTRACT

Fusarium wilt, caused by *Fusarium oxysporum* fungi has become an important melon disease, due to great losses in the production areas in Brazil and in the world. Therefore, the objective of the present work was to evaluate efficacy of ethanolic extracts of *Senna alata* parts in the control of *F. oxysporum* micelial growth, isolated of melon plants. The experimental design was entirely randomized distributed in factorial scheme 4 x 6 + 1, being the first factor parts of the plant (stalk, leaf, root, and green bean), and as second, six concentrations (0.25; 0.50, 50, 75, 250, 500 µg mL⁻¹), plus the control, with four repetitions per treatment. The variables evaluated were: rate of mycelial growth, inhibition of the mycelial growth (IGM) and area under the curve of the mycelia growth. Ethanolic extracts of all *Senna alata* parts were efficient in control of *F. oxysporum*. Extracts of root and string bean were most efficient in inhibiting the mycelial growth of *F. oxysporum*, in 500 µg mL⁻¹ concentration.

Key words: vegetable fungicide, antimicrobial activity, *Cucumis melo*

¹ UFRPE, Unidade Acadêmica de Garanhuns (UAG), CEP 55292-455, Garanhuns, PE. Fone: (87) 9921.0507. E-mail: evmbio@gmail.com

² UFRSA, Departamento de Ciências Animais (DCAN), CEP 59625-900, Mossoró, RN. Fone: (84) 9654.1651

³ UERN, Departamento de Ciências Biológicas (DECB), CEP 59625-620, Mossoró, RN. Fone: (84) 8899.9243. E-mail: cycavalcanti@gmail.com; kmbsbarbosa@yahoo.com.br

⁴ UERN, Departamento de Química (DQ), CEP 59625-620, Mossoró, RN. Fone: (84) 8801.3585. E-mail: arnaldo@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

A produção de melão no Nordeste do Brasil representa grande expressão econômica e social, pois esta região é responsável por 90% da produção de melão do grupo *Inodorus* em nível nacional (Silva et al., 2003; Dantas et al., 2012). O Rio Grande do Norte desponta como o principal produtor e exportador desta olerícola (Sales Júnior et al., 2006; IBGE, 2009).

Este aumento na demanda de produção faz com que os produtores adotem práticas contínuas de monocultivo somadas a mudanças para métodos cada vez mais intensivos, o que resulta no aumento do número e severidade de doenças (Medeiros et al., 2006b). Dentre essas, a murcha-do-fusarium, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *Melonis*. Esta patologia é responsável por perdas severas da produção no Brasil e no mundo, com relatos em diversas áreas de produção (Marinho et al., 2002; Coutinho et al., 2010).

No início da infecção se observam engrossamento e desintegração de tecidos do sistema radicular do meloeiro. A murcha é o sintoma mais característico e ocorre também em plantas jovens evoluindo a morte, causando danos em qualquer fase de desenvolvimento do meloeiro (Tavares, 2002).

Fusarium oxysporum é um fungo filamentosos que sobrevive no solo em forma de estrutura de resistência, em resto de cultivo e em sementes infectadas sendo, portanto, um fungo de difícil controle. Alguns métodos são usados para seu controle, como a aplicação de micro-ondas no solo, uso de cultivares resistentes e a solarização com brometo de metila, sendo este uma maneira efetiva; entretanto, tem gerado grandes danos ao meio ambiente.

Dentre as formas de controle a utilização de extratos de *S. alata* pode constituir-se como uma nova opção para inibição de vários micro-organismos responsáveis por perdas elevadas de diversas culturas (Chomnawang et al., 2005). Este método pode, inclusive, ser aplicado para fitopatógenos habitantes de solo, como é o caso do *Monosporascus cannonballus* (Viana et al., 2008) e *Myrothecium roridum* (Medeiros et al., 2011), ambos importantes fitopatógenos que atacam o meloeiro.

Senna alata (L.) Roxb. é uma planta perene arbustiva pertencente à família Leguminosae e subfamília Caesalpinioideae. O interesse por esta planta está crescendo devido, sobretudo, às suas propriedades medicinais como antimicrobiana, anti-inflamatória, anti-hepática, atianêmica, antiblenorrágica, antídota e laxante, entre outras (Ibrahim & Osman, 1995; Khan et al., 2001; Somchit et al., 2003; Awal et al., 2004; Barrese Pérez et al., 2005; Pieme et al., 2006) e por ser considerada planta daninha (Rodrigues et al., 2009).

Esta planta vem sendo estudada, ainda, por sua capacidade antimicrobiana, visando ao controle de micro-organismos de importância agrícola, através do uso de extrato de suas partes (Viana et al., 2008; Medeiros et al., 2011). Esta é uma forma promissora de controle de fitopatógenos haja vista que os produtos químicos normalmente utilizados podem acarretar resistência nesses micro-organismos, além de grandes danos econômicos e sociais (Castellanos et al., 2001). Além de ser considerada planta daninha, a espécie é abundante no Rio Grande do Norte e seus compostos são facilmente biodegradados no meio ambiente; assim, o uso de suas partes

vegetativas para fins de controle de fitopatógenos poderá constituir-se como alternativa, sem agressão ao meio ambiente.

Tendo em vista a importância da doença causada por *F. oxysporum* em campos de produção de meloeiro e a crescente busca por formas alternativas de controle de fitopatógenos e as propriedades antimicrobianas de *S. alata*, o objetivo foi avaliar *in vitro* a eficiência de diferentes partes de *S. alata* sobre o crescimento micelial de *F. Oxysporum*.

MATERIAL E MÉTODOS

O isolado de *Fusarium oxysporum* utilizado neste experimento foi proveniente de plantas de meloeiro com sintomas de colapso, coletadas em fazendas produtoras de melão no Município de Mossoró, RN, maior produtor de melão nacional.

Tais plantas foram enviadas ao laboratório no qual se realizou o isolamento pelo método rotineiro de plaqueamento (Menezes & Silva-Hanlin, 1997). Através deste método fragmentos superficiais da raiz da planta foram desinfestados e submetidos a três lavagens consecutivas em água destilada estéril (ADE) sendo posteriormente secados e transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) acrescido de 500 µg mL⁻¹ de estreptomicina; cada placa continha 4 fragmentos de raízes de meloeiro com sintoma da doença; essas placas foram mantidas a 25 °C durante 14 dias, em BOD para crescimento dos fungos; posteriormente, os pontos de isolamento foram repicados para obtenção de cultura pura sendo em seguida identificados por microscopia óptica e selecionado um isolado, através de testes de patogenicidade; após a seleção o isolado foi repicado em culturas puras e incubado por 14 dias em estufa (BOD) a 25 ± 2 °C, sob alternância luminosa (12 h claro / 12 h escuro) para obtenção do inóculo.

Plantas de *Senna alata* (L.) Roxb. foram coletadas no município de Rafael Fernandes, RN. Em um dos exemplares foi feita uma excisada a qual foi deposita no herbário MOSS da UFERSA que recebeu o número de tomo 5508.

Partes vegetais, como caule, folha, raiz e vagem foram coletadas separadamente, pesadas e postas para secar durante sete dias a 65 °C em estufa de circulação de ar forçado. Após secadas, as partes vegetais foram trituradas até grau de pó semifino. Os extratos das diferentes partes do vegetal foram preparados por extração exaustiva com etanol (3 x 500 mL) a frio. Após a extração os extratos etanólicos de *S. alata* foram concentrados em rotavapor sob pressão reduzida e as soluções estoque de cada parte da planta foram preparadas a partir dos extratos dissolvidos em etanol na concentração de 1000 µg mL⁻¹.

Diferentes concentrações dos extratos de partes de *Senna alata* (caule, folha, raiz e vagem) foram incorporadas ao meio de cultura BDA; em seguida, foram obtidas a partir de diluições da solução estoque de 1000 µg mL⁻¹, até obtenção das concentrações 0,25; 0,5; 50; 75; 250 e 500 µg mL⁻¹.

Disco de 6 mm contendo o inóculo de *Fusarium* foi retirado das placas de cultura pura com 14 dias e depositado na placa de Petri (9 cm de diâmetro) que continha BDA + o extrato

etanólico de *Senna alata*, o tratamento controle foi constituído pelo meio BDA sem extrato; as placas foram incubadas a 25 °C em B.O.D e avaliado o crescimento micelial após 24 h.

O delineamento experimental utilizado foi do tipo inteiramente casualizado, distribuído em esquema fatorial 4 x 6 + 1, sendo 4 tipos de extrato proveniente de diferentes partes da planta e 6 concentrações de extratos etanólicos mais a testemunha, com quatro repetições.

As avaliações foram realizadas diariamente através de medição do diâmetro das colônias (média de duas medidas perpendiculares) até o total crescimento do tratamento controle; enfim as variáveis analisadas foram:

- Taxa de crescimento micelial (TCM), mm
- Percentagem da inibição do crescimento micelial (ICM) calculada pela fórmula de Abbott (1925): Determinada por meio da Eq. (1).

$$ICM(\%) = [(T - t)/T] \times 100 \quad (1)$$

em que:

- T - testemunha
- t - tratamento

- Área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) utilizando-se a fórmula, de acordo com a Eq. (2):

$$AACCM = \frac{\sum y_i + (y_i + 1)}{2d_{ij}} \quad (2)$$

sendo: y_i e y_{i+1} são os valores de crescimento da colônia observados em duas avaliações consecutivas e d_{ij} o intervalo entre as avaliações. Para efeito de análise os dados originais da ICM foram transformados em arcsen raiz ($x + 0,5/100$) e submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a nível de 5% de probabilidade. Com as médias dos dados brutos foram obtidas e selecionadas curvas de regressão, tendo as concentrações dos extratos como variável independente. Modelos exponenciais, logarítmico, quadrático e polinomiais foram testados, e selecionados com base no coeficiente de determinação (R^2) e no quadrado médio do resíduo (QMR), conforme Medeiros et al. (2006a).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação significativa ($P = 0,05$) entre os extratos de diferentes partes da planta de *Senna alata* e as diferentes concentrações nas variáveis inibição do crescimento micelial-ICM (Figura 1A) e taxa de crescimento micelial-TCM de *Fusarium* (Figura 1B).

A concentração mais eficiente em inibir o crescimento micelial de *Fusarium* foi a de $500 \mu\text{g mL}^{-1}$, com média de 9,57; 18,48 e 15,51%, respectivamente, para os extratos de caule, folha e vagem. O mais eficiente dos extratos avaliados nesta concentração foi o extraído da raiz, com uma média de 20,35% de inibição do crescimento, sendo quase 50% mais eficiente que o extrato do caule.

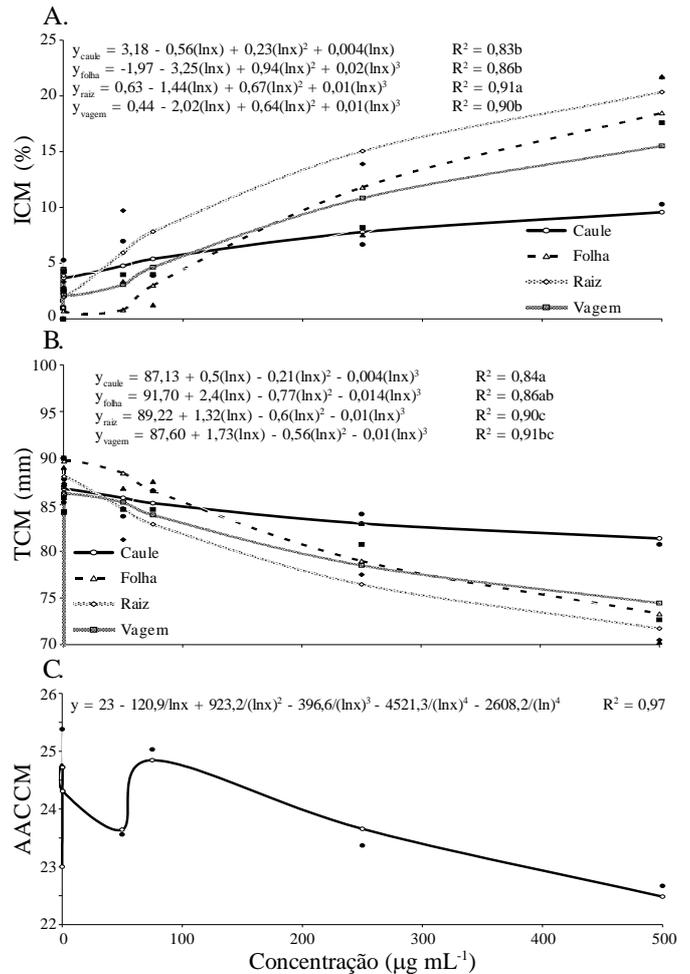


Figura 1. Inibição do crescimento micelial (ICM) (A), Taxa de crescimento micelial (TCM) (B) e Área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) de *Fusarium oxysporum* em meio BDA acrescido a diferentes concentrações e partes da planta do extrato etanólico de *Senna alata* (C)

O extrato proveniente desta parte da planta também foi o mais eficiente em estudo realizado por Viana et al. (2008), os quais obtiveram, avaliando extratos da mesma planta diante do crescimento de um fitopatógeno também habitante do solo, *M. cannonballus*, índices de inibição em média de 36,7% muito superiores aos extratos do caule e vagem que apresentaram índices de inibição do crescimento de 28,6 e 27,99%; entretanto, os autores não avaliaram o extrato da folha que, no presente experimento, foi o segundo mais eficiente em inibir o crescimento micelial de *Fusarium*, com média de inibição de 18,48%.

Houve interação entre os fatores concentração e partes da planta de *Senna alata* diante do crescimento micelial de *Fusarium* para a variável TCM. As curvas de regressão que melhor se ajustaram para explicar tais dados foram as polinomiais, com coeficientes de determinação que variaram de 0,84 a 0,91.

A parte vegetal que permitiu um desenvolvimento maior do micélio de *Fusarium*, foi o caule que, na concentração de $500 \mu\text{g mL}^{-1}$, permitiu um crescimento de 80,75 mm do referido fungo, enquanto o mais eficiente, o extrato proveniente da raiz, nesta

concentração, permitiu apenas 70,5 mm. Extratos de outras plantas também foram efetivos contra este fungo, como *Azardiachta indica*, *Rheum emodi*, *Eucalyptus globulus*, *Artemisia annua* e *Ocimum sanctum* (Joseph et al., 2008).

Na área abaixo da curva de crescimento micelial de *Fusarium* ocorreu efeito significativo apenas para os fatores isolados: concentração de extrato (Figura 1C) e partes da planta.

A curva polinomial foi a que melhor se enquadrou para descrever o comportamento da variável AACCM com coeficiente de determinação de 0,97 (Figura 1C); dentre as concentrações a que apresentou uma AACCM melhor, foi a de 90 µg mL⁻¹.

Em relação à variável AACCM, o extrato da parte de *Senna alata* que apresentou o maior índice foi o proveniente do caule, com média de 30,17, seguido dos extratos etanólicos de raiz, vagem e folha, com médias de 25, 32, 24,14 e 17,00, respectivamente, todos diferindo estatisticamente entre si.

Para o fitopatógeno *Myrothecium roridum*, as partes de *Senna alata* que apresentaram maior AACCM, foram os extratos provenientes da vagem e fluorescência, seguidos de caule e raiz (Medeiros et al., 2011). Este fato comprova que os extratos etanólicos de partes vegetais de *Senna alata* podem atuar de forma específica para cada tipo de micro-organismo devido às propriedades bioativas específicas contidas em cada um dos órgãos da referida planta.

Tais compostos são sintetizados pelo metabolismo secundário das plantas que atuam como mecanismo de defesa contra fatores adversos e suas concentrações em diferentes partes da planta podem variar pela influência de vários tipos de fatores, sejam eles principalmente ambientais e/ou genéticos. A prevalência neste trabalho da efetividade dos extratos da raiz e da folha de *S. alata* sobre *F. oxysporum* pode ter sido devido, provavelmente, por essas partes estarem em constante atividade metabólica e de crescimento e acabarem concentrando maior quantidade de metabólitos bioativos com atividade antimicrobiana. Fatores como estresse ambiental, atividade de parasitas, além da idade do vegetal, podem influenciar especificamente no aumento da concentração de bioativos (Gobbo Neto & Lopes, 2007; Viana et al., 2008).

CONCLUSÕES

1. Os extratos etanólicos de todas as partes de *Senna alata* foram eficazes no controle *in vitro* de *Fusarium oxysporum*.

2. Extratos de raiz e vagem foram os mais eficientes em inibir o crescimento micelial de *F. oxysporum*, na concentração 500 µg mL⁻¹.

LITERATURA CITADA

Abbott, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, v.18, p.265-267, 1925.

Awal, M. A.; Nahar, A.; Hossain, M. S.; Bari, M. A.; Rahman, M.; Haque, M. E. Brine shrimp toxicity of leaf and seed extracts of *Cassia alata* Linn. and their antibacterial potency. *Journal of Medical Science*, v.4, p.188-193, 2004.

Barrese Pérez, Y.; Hernández Jiménez, M. E.; Pulpeiro, O. G. Caracterización y estudio fitoquímico de *Cassia alata* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, v.10, p.1-5, 2005.

Castellanos, P. P.; Bishop, C.; Villalobos, M. J. P. Antifungal activity of the essential oil of flowerheads of garland chrysanthemum (*Chrysanthemum coronarium*) against agricultural pathogens. *Phytochemistry*, v.57, p.99-102, 2001.

Chomnawang, M. T.; Surassmo, S.; Nukoolkarn, V. S.; Gritsanapan, W. Antimicrobial effects of Thai medicinal plants against acne-inducing bacteria. *Journal of Ethnopharmacology*, v.101, p.330-333, 2005.

Coutinho, F. P.; Cavalcanti, M. A. Q.; Yano-Melo, A. M. Filamentous fungi isolated from the rhizosphere of melon plants (*Cucumis melo* L. cv. Gold Mine) cultivated in soil with organic amendments. *Acta Botânica Brasileira*, v.24, p.292-298, 2010.

Dantas, A. C. A.; Nunes, G. H. S.; Araújo, I. S.; Albuquerque, L. B. Caracterização molecular de acessos de melão coletados no Nordeste brasileiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.34, p.183-189, 2012.

Gobbo-Neto, L.; Lopes, N. P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*, v.30, p.374-381, 2007.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2009. Disponível em: www.ibge.gov.br/. Acesso em Fev. de 2011.

Ibrahim, D.; Osman, H. Antimicrobial activity of *Cassia alata* from Malaysia. *Journal of Ethnopharmacology*, v.45, p.151-156, 1995.

Joseph, B.; Dar, A.; Kumar, V. Bioefficacy of plant extracts to control *Fusarium solani* F. sp. Melongenae Incitant of Brinjal Wilt. *Global Journal of Biotechnology & Biochemistry*, v.3, p.56-59, 2008.

Khan, M. R.; Kihara, M.; Omoloso, A. D. Antimicrobial activity of *Cassia alata*. *Fitoterapia*, v.72, p.561-564, 2001.

MAPA - Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento–mapa. Sislegis – Sistema de Consulta a Legislação. Julho, 2006. <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2958>> 11 Fev. 2011.

Marinho, R. E. M.; Sales Júnior, R.; Maracajá, P. B.; Silva, G. F.; Costa, F. M.; Silva, E. C. Identificação da micoflora associada a raízes de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará. *Revista Caatinga*. v.15, p.25-28, 2002.

Medeiros, E. V.; Albuquerque, J. F. C.; Michereff, S. J.; Sales Júnior, R.; Nunes, G. H. S. Controle de *Monosporascus cannonballus* por tiazolidina-2,4-diona e efeito sobre o agente de controle biológico *Trichoderma* spp. *Revista Caatinga*, v.19, p.44-50, 2006a.

Medeiros, E. V.; Sales Júnior, R.; Michereff, S. J.; Barbosa, M. R. Quantificação de ascósporos de *Monosporascus cannonballus* em solos não cultivados de Caatinga e em áreas de cultivo de melão do Rio Grande do Norte e Ceará. *Tropical Plant Pathology*, v.31, p.500-504, 2006b.

Medeiros, E. V.; Viana, M. G.; Albuquerque, C. A.; Viana, F. A.; Silva, K. M. B. Extrato etanólico de partes de *Senna alata* no controle de *Myrothecium roridum*, agente causal do cancro-de-mirotécio. *Revista Planta Daninha*, v.29, p.1-7, 2011.

- Menezes, M.; Silva-Hanlin, D. M. W. Guia prático para fungos fitopatogênicos. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 1997. 106 p.
- Pieme, C. A.; Penlap, V. N.; Nkegoum, B.; Taziebou, C. L.; Tekwu, E. M.; Etoa, F. X.; Ngongang, J. Evaluation of acute and subacute toxicities of aqueous ethanolic extract of leaves of *Senna alata* (L.) Roxb (Caesalpiniaceae). *Africa Journal Biotechnology*, v.5, p.283-289, 2006.
- Rodrigues, I. M. C.; Souza Filho, A. P. S.; Ferreira, F. A. Estudo fitoquímico de *Senna alata* por duas metodologias. *Planta Daninha*, v.27, p.507-513, 2009.
- Sales Júnior, R.; Dantas, F. F.; Salviano, A. M.; Nunes, G. H. S. Qualidade do melão exportado pelo porto de Natal-RN. *Ciência Rural*, v.36, p.286-289, 2006.
- Silva, P. S. L.; Mariguele, K. H.; Silva, P. I. B. Produtividade do meloeiro em função de cultivares e épocas de semeadura. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.25, p.552-554, 2003.
- Somchit, M. N.; Reezal, I.; Nur, I. E.; Mutalib, A. R. *In vitro* antimicrobial activity of ethanol and water extracts of *Cassia alata*. *Journal of Ethnopharmacology*, v.84, p.1-4, 2003.
- Tavares, S. C. C. H. (Ed.) Melão. Fitossanidade: Aspectos técnicos. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica (Frutas do Brasil; 25), 2002. 87p.
- Viana, M. G.; Albuquerque, C. C.; Medeiros, E. V.; Viana, F. A.; Silva, K. M. B. Avaliação do potencial fungicida de extratos etanólicos de *Senna alata* contra *Monosparacus cannonballus*. *Ciência e Agrotecnologia*, v.32, p.1387-1393, 2008.