

Abanico Agroforestal. Janeiro-Dezembro 2020; 2:1-13. <http://dx.doi.org/10.37114/abaagrof/2020.7>
Artigo Original. Recebido: 17/02/2020. Aceito: 10/07/2020. Publicado: 14/08/2020. Chave: e2020-10

Extratos vegetais para o controle de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* e *Rhizoctonia solani*, uma alternativa sustentável para a agricultura

Plant extracts to control *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani*: a sustainable alternative for agriculture

Alfredo Rodríguez-Castro¹ ID, Sandra Torres-Herrera² ID, Antonio Domínguez-Calleros² ID, Ana Romero-García³ ID, Miguel Silva-Flores*¹ ID

¹Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico Superior de Rioverde. Carretera Rioverde-San Ciró Km 4.5 Col. María del Rosario. CP. 79610. San Luis Potosí, México. ²Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Juárez Estado de Durango. México. ³Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A.C., Camino a La Presa de San José 2055, Lomas 4 sección. CP. 78216. San Luis Potosí, México. *Autor para correspondência: Miguel Silva-Flores. ing.josealfredorodriguez@gmail.com, sith.chany@gmail.com, pdomingc@hotmail.com, alrg_6@hotmail.com, miguelangelsilvaflores@gmail.com.

RESUMO

Atualmente a agricultura exige alternativas ao uso de agrotóxicos para o controle de fitopatógenos, os extratos vegetais podem ajudar a minimizar as perdas por fitopatógenos sem causar danos à saúde humana. O objetivo deste trabalho foi avaliar, *in vitro*, o efeito de extratos vegetais sobre *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* e *Rhizoctonia solani*. Foram avaliados extratos metanólicos (EM) de: *Moringa oleifera* (Moringa), *Persea americana* (Abacate), *Equisetum hymale* (Cola de caballo), *Larrea tridentata* (Gobernadora), *Gnaphalium semiamplexicaule* (Gordolobo), *Peumus boldus* (Boldo), *Brickellia squarrosa* (Prodigiosa), *Rosmarinus officinalis* (Rosemary) e *Physalis coztomatl* (Costomate), obtidos em equipamento Soxhlet na concentração de 10% (p/V). Com o auxílio do software estatístico Mlnitab 16[®] México, foi realizada a análise de variância (ANDEVA) e a comparação das médias de Tukey ($p \leq 0,05$). A porcentagem de inibição do crescimento micelial foi determinada separadamente. O EM de *Larrea tridentata* (Gobernadora) inibiu 100% o crescimento de *Fusarium solani* e *Rhizoctonia solani* por até 144 h, e de *F. oxysporum* por até 240 h. Os EMs de *Brickellia squarrosa* (Prodigiosa) e *Rosmarinus officinalis* (Rosemary) também inibiram o crescimento micelial. Esses extratos representam uma excelente alternativa para o controle e manejo convencionais de fitopatógenos.

Palavras-chave: fitopatógenos, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Rhizoctonia solani*, extratos vegetais e biocontrole

ABSTRACT

Agriculture currently requires alternatives to the use of pesticides to control plant pathogens, such as plant extracts that can help minimize losses from plant pathogens, without causing harm to human health. In this work, the effect of plant extracts on *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* and *Rhizoctonia solani* was evaluated *in vitro*. The methanolic extracts (EM) of: *Moringa oleifera* (Moringa, leaves), *Persea americana* (Avocado), *Equisetum hymale* (Horsetail), *Larrea tridentata* (Gobernadora), *Gnaphalium semiamplexicaule* (Gordolobo), *Peumus boldus* (Boldo), *Brickellia squarrosa* (Prodigiosa), *Rosmarinus officinalis* (Rosemary) and *Physalis coztomatl* (Costomate), were obtained using a Soxhlet kit at a concentration of 10% (w/V). Using the statistical software Mlnitab 16[®] México, an analysis of variance (ANDEVA) and comparison of Tukey means ($p \leq 0.05$) were performed. The percentage of inhibition of mycelial growth was determined

separately. The ME of *Larrea tridentata* (Gobernadora) 100% inhibited *Fusarium solani* and *Rhizoctonia solani* growth for up to 144 h, and of *F. oxysporum* for up to 240 h. The ME of *Brickellia squarrosa* (Prodigiosa) and *Rosmarinus officinalis* (Rosemary) also inhibited mycelial growth. These extracts represent an excellent alternative to the conventional control and management of plant pathogens.

Keywords: phytopathogens, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Rhizoctonia solani*, plant extracts and biocontrol.

INTRODUÇÃO

Os avanços científicos e tecnológicos conseguem aumentar a produtividade da agricultura. Em geral, o aumento se deve à incorporação de produtos sintéticos, como fertilizantes e agrotóxicos, que geram problemas ambientais (Samsidar *et al.*, 2018). Atualmente a agricultura requer alternativas ecológicas, econômicas e ambientalmente corretas para gerenciar doenças e minimizar o uso de agroquímicos sintéticos (Tamilselvi e Arumugam, 2017), que não prejudicam a saúde dos trabalhadores agrícolas e consumidores (Samsidar *et al.*, 2018).

As doenças das raízes nas culturas são um dos problemas mais difíceis de controlar, porque no solo existem condições muito particulares que fornecem aos fitopatógenos das raízes (FR) elementos e condições ideais para o seu estabelecimento e desenvolvimento (García, 2010). Dada a necessidade de soluções ecológicas e de redução do impacto negativo dos agrotóxicos nos ecossistemas, os extratos vegetais têm se mostrado uma opção sustentável para mitigar os problemas fitossanitários e reduzir as perdas econômicas que estes se originam (Cerqueira *et al.*, 2016).

Tradicionalmente o controle e manejo dos problemas fitossanitários é feito com agrotóxicos, esse manejo tem consequências adversas à saúde e ao ecossistema; além de gerar resistência em fitopatógenos a alguns compostos de síntese química utilizados na agricultura (Del Puerto *et al.*, 2014). No entanto, deve-se explorar a viabilidade de controlar fitopatógenos com outras opções, como extratos de plantas, que podem ser igualmente eficazes para o controle e manejo de fitopatógenos. Os extratos podem ser obtidos por diferentes métodos: destilação a vapor-extração com solvente, extração com fluido supercrítico (Stashenko *et al.*, 2003); soxhlet e lixiviação a frio ou percolação (Henaó *et al.*, 2009).

Existem pesquisas em que extratos vegetais são utilizados para o manejo de fitopatógenos, nesse sentido há aqueles que já foram feitos; inibição de *Phytophthora infestans* (Gamboa-Alvarado *et al.*, 2003), *Pythium control* (Lira-Saldívar *et al.*, 2003; Osorio *et al.*, 2010), *Verticillium dahliae control* (López-Benítez *et al.*, 2005), *Sclerotinia sclerotiorum* (Al-Reza *et al.*, 2010), *Fusarium oxysporum* (Rodríguez *et al.*, 2012; Cáceres Rueda de León *et al.*, 2013; Vásquez *et al.*, 2014; Dania *et al.*, 2014; Ferdes *et al.*, 2017), controle de *Fusarium solani* (Zaker, 2014; Vásquez *et al.*, 2014) e *Rhizoctonia solani* (López-Benítez *et al.*, 2005; Jasso de Rodríguez *et al.*, 2007; Zamora-Natera *et al.*, 2008; Dania *et al.*, 2014).

O efeito dos extratos vegetais sobre alguns patógenos, de interesse médico ou agrícola, deve-se ao fato de conterem metabólitos secundários com efeito fungicida e/ou bactericida, incluindo compostos fenólicos, cumarinas, flavonóides, taninos, quinonas, entre outros. Existem trabalhos onde o efeito das plantas em vários patógenos é avaliado; por exemplo, o efeito dos extratos de: *Moringa oleífera* (Canett-Romero *et al.*, 2014), *Equisetum hymale* (De Queiroz *et al.*, 2015), *Larrea tridentata* (Bañuelos-Valenzuela *et al.*, 2018), *Peumus boldus* (Mazutti *et al.*, 2008) e *Rosmarinus officinalis* (Rozman e Jersek, 2009).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar *in vitro*, o efeito de nove extratos metanólicos sobre os fitopatógenos, *Fusarium oxysporum*, *F. solani* e *Rhizoctonia solani*. Com a hipótese de que os extratos vegetais são capazes de controlar e inibir o crescimento de alguns microrganismos fitopatogênicos.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado nas instalações do Instituto Superior Tecnológico de Rioverde (ITSR), localizado na Rodovia Rioverde-San Ciro de Acosta, Km. 4.5, Cor. María del Rosario, Rioverde, San Luis Potosí, México. Para o presente estudo, foram usados extratos de nove plantas reconhecidas; que eram: *Moringa oleífera* (Moringa, folhas), *Persea americana* (abacate, folhas), *Equisetum hymale* (cola de caballo, brotos), *Larrea tridentata* (Gobernadora, folhas), *Gnaphalium semiamplexicaule* (Gordolobo, brotos), *Peumus boldus* (Boldo, brotos), *Brickellia squarrosa* (Prodigiosa, brotos), *Rosmarinus officinalis* (Alecrim, brotos) e *Physalis coztomatl* (Costomate, raízes).

Os extratos a 10% p/V (peso/volume) foram obtidos com o equipamento Soxhlet (Cornig-Pyrex Modelo 3840-XL[®]), por cinco ciclos utilizando metanol (Merck[®]) como solvente de stripping. Os extratos foram acondicionados em frascos de vidro âmbar e armazenados a 4 °C. A extração de Soxhlet foi feita oito dias antes do preparo das caixas (Gamboa-Alvarado *et al.*, 2003).

Os fungos fitopatogênicos utilizados neste trabalho foram *Fusarium oxysporum*, *F. solani* e *Rhizoctonia solani*. Esses microrganismos foram isolados de culturas locais de Tomate (*Solanum lycopersicum*) e identificados por técnicas moleculares. A extração de DNA foi feita seguindo o protocolo descrito por Reader e Broda (1989). A sequência da região interna do transcrito 18S Rdna foi amplificada, utilizando os oligos universais ITS1 (5'TCC GTA GGT GAA CCT GCG G 3') e ITS4 (5'TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC 3'), desenhados por White *et al.*, (1990). Os produtos de PCR foram clonados no vetor pGEM-Teasy, seguindo as instruções do fabricante (Promega 2015); foram sequenciados pelo método Sanger no Laboratório Nacional de Biotecnologia Agrícola, Médica e Ambiental do Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A.C. Uma vez que os ITS foram sequenciados, eles foram analisados com BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (Morgulis *et al.*, 2008) no NCBI (National Center for Biotechnology Information) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>.

Avaliação *in vitro* de extratos de plantas contra fitopatógenos

A avaliação do efeito dos extratos (25 ppm) foi feita pelo método de cultura envenenada (Grover, 1962; Gamboa-Alvarado *et al.*, 2003). Esta técnica consiste em incorporar o extrato vegetal em meio de cultura Papa Dextrose Agar (PDA BD Bioxon® México) e medir o crescimento micelial dos fitopatógenos *F. solani*, *F. oxysporum* e *R. solani*. Os tratamentos dos extratos de moringa, governadora, abacate, cola de caballo, boldo, gordolobo, prodigiosa, alecrim e costumate, foram avaliados pela colocação de 500 µL (25ppm) dos extratos por placa de Petri (20 mL). Ágar sem qualquer extrato (apenas PDA) foi incluído como controle. Cada um dos extratos foi avaliado em triplicata contra cada um dos fitopatógenos (*R. solani*, *F. solani* e *F. oxysporum*), medindo o crescimento micelial a cada 24 h com um nônio digital de precisão +/- 001 ", +/- 02 mm (Mitutoyo; 500-196-30C®).

Para o cultivo dos microrganismos, foi utilizado meio PDA, 39 g por litro de água destilada estéril. 20 mL duma mistura de PDA: EM (Potato Dextrose Agar: Methanolic Extract) foram despejados em placas de Petri com diâmetro de 90 mm, na proporção de 1: 0,05; ou seja, 500 µL de extrato por caixa. Todos os itens acima em uma capela de fluxo laminar (Marca LABCONCO® LABCO07283).

Após esse tempo, as caixas foram inoculadas com um explante BDA de 5 mm de diâmetro, com crescimento do fitopatógeno e incubadas em câmara bioclimática a 25 °C (marca Thermo Scientific® Mod 3949). Todos os testes foram feitos em triplicata num delineamento experimental inteiramente casualizado.

Análise de dados

Com os dados obtidos na fase experimental, a porcentagem de inibição do crescimento micelial foi calculada com a fórmula:

$$I. C. M. = [(Dc - Dt)/Dc]x100$$

onde: I.C.M. é a porcentagem de inibição do crescimento micelial, Dc é o diâmetro do micélio no controle e Dt = diâmetro do micélio no tratamento.

Da mesma forma, foi realizada a análise de variância (ANDEVA) e a comparação de médias múltiplas de Tukey ($p \leq 0,05$). A análise foi feita com o software estatístico Minitab 16® Mexico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao avaliar o efeito dos Extratos Metanólicos (EM) sobre o *Fusarium oxysporum*, foi observada diferença estatística entre os tratamentos ($p \leq 0,05$). O EM de *L. tridentata* inibiu 100% o crescimento do patógeno por até 144 horas e 90% por até 240 horas; enquanto o de *R. officinalis* inibiu 50,7% por até 72 horas e 42,2% por 144 horas (Tabela 1). López-Benítez *et al.*, em 2005, apresentaram resultados semelhantes, nos quais indicam que os extratos de *Syzygium aromaticum* e *L. tridentata* a 10% inibem o

crescimento de *F. oxysporum* f. sp. *Lycopersici*, até 144 h. [Dania et al.](#), em 2014, documentaram que os extratos aquosos (EA) de *Oryza sativa* e *Quercus phillyraeoides* a 1,5 e 2,5% podem inibir totalmente *in vitro* o crescimento de seis fitopatógenos, entre eles *F. oxysporum*.

Por outro lado, os extratos etanólicos (EE) de *Fluorensia cernua* (Hojasén), *F. microphylla* e *F. retinophylla* mostraram-se uma alternativa eficaz para o controle de *Fusarium oxysporum*, inibindo seu crescimento em 100%, com concentração de 1500 µL L⁻¹ ([Jasso de Rodríguez et al.](#), 2007).

Existem estudos onde Óleos Essenciais (OE) também foram avaliados para o manejo de *F. oxysporum*. Nesse sentido, há o trabalho de [Ferdes et al.](#), em 2017 com OE de *R. officinalis*, na concentração de 20 µg mL⁻¹ 93% do crescimento de *F. oxysporum* é inibido; enquanto com 10 µg mL⁻¹ de OE de *P. anisum* e *S. hortensis* o crescimento de *F. oxysporum* é totalmente inibido. Da mesma forma, [Vásquez et al.](#), em 2014, concluíram que os OEs de *Chenopodium ambrosioides* a 2% e *Chenopodium album* a 0,03% inibem completamente o crescimento de *F. oxysporum* f. sp. *Lycopersici*, até 11 dias.

Tabela 1. Inibição do crescimento micelial (ICM, %) de *Fusarium oxysporum* com diferentes extratos metanólicos em 72, 144 e 240 h, após o início do experimento

Extrato vegetal	72 h	144 h	240 h
<i>L. tridentata</i>	100.0 ± 0.0 a	100.0 ± 0.0 a	89.4 ± 0.3 a
<i>B. squarrosa</i>	39.8 ± 4.4 bc	38.6 ± 2.3 bc	31.7 ± 2.7 b
<i>G. semiamplexicaule</i>	24.6 ± 2.3 cd	28.3 ± 1.2 cd	24.2 ± 2.4 bc
<i>P. americana</i>	25.1 ± 5.4 cd	26.3 ± 2.2 d	12.9 ± 4.9 cd
<i>P. boldus</i>	26.0 ± 3.9 cd	24.5 ± 4.1 d	11.7 ± 2.7 cd
<i>P. coztomatl</i>	24.8 ± 4.2 cd	27.4 ± 1.5 cd	9.2 ± 4.0 bc
<i>M. oleifera</i>	19.7 ± 3.4 d	17.1 ± 2.9 d	4.0 ± 1.4 d
<i>R. officinalis</i>	50.7 ± 2.9 b	42.2 ± 1.5 b	29.6 ± 2.2 b

Médias com letras diferentes indicam diferença estatística (Tukey, p ≤ 0,05).

Neste estudo, o EM de *L. tridentata* inibiu o crescimento de *F. oxysporum*, por até 144 h, seguido em eficácia pelo de *R. officinalis* e *B. squarrosa*. Com esses tratamentos, o crescimento micelial é inibido em até 80%, em comparação com o controle negativo (Tabela 2). Esses resultados coincidem com os relatados por [Osorio et al.](#), em 2010, concluem que com uma concentração de 0,7 mg kg⁻¹ *L. tridentata* inibe 100% o crescimento de *F. oxysporum in vitro*.

Nos resultados dos extratos em *Fusarium solani*, por meio da ANDEVA e da comparação das médias de Tukey (p≤0,05), foi observada diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos. O EM de *L. tridentata* inibiu 100% do crescimento de *F. solani*, por até dez dias; apresentando importante efeito inibitório sobre este fitopatógeno. O exposto é relevante se for considerado que existem produtos químicos que são aplicados uma ou

mais vezes por semana e não alcançam esses resultados, mesmo em condições de laboratório não podem inibir o crescimento do micélio em 100%, conforme relatado por [Yossen e Conles em 2016](#), que em seu trabalho com moléculas comerciais, atingiu uma inibição entre 60 e 97%. O EM de *R. officinalis* avaliado neste trabalho inibiu o crescimento micelial em 70%, em comparação ao controle por até 144 h. Esses dados são semelhantes aos obtidos com os extratos aquosos de *Prosopis juliflora* e *Lantana camara*, que atingem 80 e 69% de inibição micelial, respectivamente ([Seetha et al., 2010](#)). Da mesma forma, estudos de [David et al., em 2013](#), relatam que o EM dos botões florais de *Calotropis gigantea* a 25% reduz o crescimento de *F. solani* em 68%.

Tabela 2. Crescimento micelial médio (mm) de *Fusarium oxysporum* com diferentes extratos metanólicos em 72, 144 e 240 h, após o início do experimento

Extrato vegetal	72 h	144 h	240 h
Ágar	22.3 ± 0.4 a	44.4 ± 0.7 a	65.9 ± 0.7 a
<i>L. tridentata</i>	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 e	7.0 ± 0.2 e
<i>B. squarrosa</i>	13.4 ± 1.0 cd	27.3 ± 1.0 cd	45.0 ± 1.7 d
<i>R. officinalis</i>	11.0 ± 0.6 d	25.7 ± 0.6 d	46.4 ± 1.4 d
<i>G. semiamplexicaule</i>	16.8 ± 0.5 bc	31.8 ± 0.5 bc	50.0 ± 1.6 cd
<i>P. coztomatl</i>	16.8 ± 0.9 bc	32.3 ± 0.7 bc	53.3 ± 2.6 cd
<i>E. hymale</i>	18.2 ± 0.1 b	35.4 ± 1.5 b	56.7 ± 1.7 bc
<i>P. americana</i>	16.7 ± 1.2 bc	32.7 ± 1.0 b	57.5 ± 3.2 abc
<i>P. boldus</i>	16.5 ± 0.9 bc	33.5 ± 1.8 b	58.3 ± 1.8 abc
<i>M. oleifera</i>	17.9 ± 0.8 b	36.8 ± 1.3 b	63.3 ± 0.9 ab

Médias com letras diferentes indicam diferença estatística (Tukey, $p \leq 0,05$).

Tabela 3. Inibição do crescimento micelial (ICM, %) de *Fusarium solani* com diferentes extratos metanólicos em 72, 144 e 240 h, após o início do experimento

Extrato vegetal	72 h	44 h	240 h
<i>L. tridentata</i>	100.0 ± 0.0 a	100.0 ± 0.0 a	100.0 ± 0.0 a
<i>R. officinalis</i>	64.7 ± 0.9 b	70.2 ± 0.3 b	58.5 ± 1.7 b
<i>B. squarrosa</i>	37.9 ± 0.4 c	37.2 ± 1.3 c	11.8 ± 0.9 c
<i>P. coztomatl</i>	26.5 ± 1.2 de	28.5 ± 1.8 d	5.7 ± 0.4 d
<i>P. americana</i>	26.9 ± 2.5 de	28.4 ± 1.2 d	0.5 ± 0.5 e
<i>P. boldus</i>	31.2 ± 1.2 cd	30.8 ± 0.3 d	0.0 ± 0.0 e
<i>G. semiamplexicaule</i>	26.3 ± 2.0 de	28.1 ± 0.3 d	0.0 ± 0.0 e
<i>M. oleifera</i>	22.6 ± 3.4 de	15.5 ± 0.9 f	0.0 ± 0.0 e
<i>E. hymale</i>	21.5 ± 2.4 e	22.2 ± 0.6 e	0.0 ± 0.0 e

Médias com letras diferentes indicam diferença estatística (Tukey, $p \leq 0,05$).

É importante ter opções ecológicas para o controle de fungos fitopatogênicos, como as exploradas neste trabalho. Nesta pesquisa, os resultados com o EM de *L. tridentata* coincidiram com os de [Osorio et al., em 2010](#), que utilizaram extratos polifenólicos de *L. tridentata*, e conseguiram inibir 100% do crescimento de *F. solani*, com um concentração de 0,70 mg L⁻¹.

Em estudo realizado por [Vásquez et al., \(2014\)](#), avaliou-se o efeito fungistático de extratos aquosos (EA) e óleos essenciais (OE) de espécies do gênero *Chenopodium* sobre *F. solani*; Os autores concluíram que o EA de *Chenopodium ambrosioides* a 2% e *Chenopodium album* a 0,03% inibem completamente o crescimento de *F. solani*, por até 11 dias; enquanto neste trabalho *L. tridentata* inibiu 100% por até 10 dias. Outro caso com resultados semelhantes em *Fusarium spp.* foi o trabalho de [Duarte et al., em 2013](#), que com óleos essenciais de *Piper aduncum* subsp. *ossanum* e *Piper aurintum* inibem totalmente o crescimento deste fungo.

Por outro lado, Zaker (2014) concluiu que o EM das folhas de *Artemisia annua* a 15%, é capaz de inibir o crescimento de *F. solani*; enquanto no presente trabalho em EM de *L. tridentata* inibiu o crescimento de *F. solani* a 100%, seguido pelos extratos de *R. officinalis* e *B. squarrosa*; que, embora em menor grau, também o inibem (Tabela 4).

Tabela 4. Crescimento micelial médio (mm) de *Fusarium solani*, com diferentes extratos metanólicos em 72, 144 e 240 h, após o início do experimento

Extrato vegetal	72 h	144 h	240 h
Ágar	30.1 ± 0.4 a	66.6 ± 0.7 a	80.0 ± 0.0 a
<i>L. tridentata</i>	0.0 ± 0.0 f	0.0 ± 0.0 g	0.0 ± 0.0 e
<i>R. officinalis</i>	10.6 ± 0.3 e	19.8 ± 0.2 f	33.2 ± 1.3 d
<i>B. squarrosa</i>	18.7 ± 0.1 d	41.9 ± 0.9 e	70.5 ± 0.8 c
<i>P. coztomatl</i>	22.1 ± 0.3 bc	47.6 ± 1.2 d	75.5 ± 0.3 b
<i>P. americana</i>	22.0 ± 0.8 bc	47.7 ± 0.8 d	79.6 ± 0.4 a
<i>P. boldus</i>	20.7 ± 0.4 cd	46.1 ± 0.2 d	80.0 ± 0.0 a
<i>G. semiamplexicaule</i>	22.2 ± 0.6 bc	47.9 ± 0.2 d	80.0 ± 0.0 a
<i>M. oleifera</i>	23.3 ± 1.0 bc	56.3 ± 0.6 b	80.0 ± 0.0 a
<i>E. hymale</i>	23.7 ± 0.7 b	51.8 ± 0.4 c	80.0 ± 0.0 a

Médias com letras diferentes indicam diferença estatística (Tukey, $p \leq 0,05$)

O extrato metanólico (EM) de *L. tridentata*, inibe em até 100% o crescimento de *Rhizoctonia solani*, durante os primeiros dez dias. O acima indica que este extrato é um fungistático eficaz. Com o ANDEVA e a comparação das médias de Tukey com significância de 95%, foi observada diferença estatística significativa entre os tratamentos, pois além de *L. tridentata*, o EM de *R. officinalis* também apresenta um percentual notável de inibição, ocasionando um efeito fungistático 56 e 48% às 144 h e 240 h, respectivamente (Tabela 5).

O controle do crescimento de fungos fitopatogênicos com extratos vegetais representa um grande avanço na proteção de plantas, no caso de *Rhizoctonia solani*; ; [Gamboa-Alvarado et al., em 2003](#) relataram resultados semelhantes aos obtidos neste trabalho de pesquisa; constataram que o EM de *Fluorensia cernua* (Hojasén), na concentração de 20.000 mg L⁻¹, inibe 85% o crescimento desse fungo por até 96 horas, em relação ao controle. [López-Benítez et al., em 2005](#), com extratos aquosos de *L. tridentata* e *Cinnamomum zeylanicum* a 10%; de *Syzygium aromaticum* a 5%, foram capazes de inibir

o crescimento *in vitro* por até 144 h, e com o extrato aquoso de *Quercus phillyraeoides* a 3,5% inibiram o crescimento do fitopatógeno em 94%. Da mesma forma, o extrato alcalóide de *Lupinus mexicanus* contra *R. solani* na concentração de 5 mg mL⁻¹ inibe seu crescimento em 100% (Zamora-Natera *et al.*, 2008). Jasso de Rodríguez *et al.*, (2007) mencionam que os extratos etanólicos de *Flourensia cernua* e *F. retinophylla* na concentração de 1000 µL L⁻¹ inibem seu crescimento. Da mesma forma, Al-Reza *et al.*, em 2010, determinaram que o OE de *Cestrum nocturnum* tem alto poder fungistático capaz de inibir o crescimento de *R. solani* em até 80%. Também Toubá *et al.*, em 2012, descobriram que *Kaempferia galanga* EA pode inibi-lo totalmente. Por outro lado, Dania *et al.*, em 2014, demonstraram que o extrato aquoso a 1% de *Oryza sativa* Husk, *in vitro*, inibe totalmente o crescimento desse fitopatógeno.

Tabela 5. Inibição do crescimento micelial (ICM, %) no tempo de *Rhizoctonia solani* com diferentes extratos metanólicos em 72, 144 e 240 h, após o início do experimento

Extrato vegetal	72 h	144 h	240 h
<i>L. tridentata</i>	100.0 ± 0.0 a	100.0 ± 0.0 a	100.0 ± 0.0 a
<i>R. officinalis</i>	56.8 ± 0.9 b	56.2 ± 1.9 b	48.0 ± 3.0 b
<i>B. squarrosa</i>	32.7 ± 1.7 c	23.2 ± 2.2 c	17.8 ± 2.2 c
<i>P. americana</i>	24.5 ± 1.6 c	19.1 ± 1.2 cd	8.1 ± 1.3 d
<i>P. coztomatl</i>	26.9 ± 3.9 c	21.6 ± 1.4 cd	7.5 ± 1.1 d
<i>P. boldus</i>	28.7 ± 2.2 c	21.3 ± 1.1 cd	7.5 ± 2.3 d
<i>E. hymale</i>	25.9 ± 1.9 c	18.5 ± 0.2 cd	2.7 ± 0.9 d
<i>M. oleifera</i>	24.4 ± 3.1 c	17.0 ± 3.9 cd	1.8 ± 0.9 d
<i>G. semiamplexicaule</i>	23.8 ± 0.7 c	14.1 ± 1.3 d	1.1 ± 0.5 d

Médias com letras diferentes indicam diferença estatística (Tukey, p ≤ 0,05)

Tabela 6. Crescimento micelial médio (mm) de *Rhizoctonia solani*, com diferentes extratos metanólicos em 72, 144 e 240 h, após o início do experimento

Extrato vegetal	72 h	144 h	240h
Ágar	19.9 ± 0.2 a	45.8 ± 0.2 a	80.0 ± 0.0 a
<i>L. tridentata</i>	0.0 ± 0.0 d	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 e
<i>R. officinalis</i>	9.6 ± 0.2 c	19.5 ± 0.8 d	34.3 ± 2.0 d
<i>B. squarrosa</i>	15 ± 0.4 b	34.1 ± 1.0 c	54.2 ± 1.5 c
<i>E. hymale</i>	16.5 ± 0.4 b	36.2 ± 0.1 bc	64.2 ± 0.6 b
<i>G. semiamplexicaule</i>	17 ± 0.1 b	38.1 ± 0.6 b	65.2 ± 0.3 b
<i>M. oleifera</i>	16.9 ± 0.7 b	36.9 ± 1.7 bc	64.7 ± 0.6 b
<i>P. americana</i>	16.8 ± 0.3 b	35.9 ± 0.5 bc	60.6 ± 0.9 b
<i>P. boldus</i>	15.9 ± 0.5 b	34.9 ± 0.5 bc	61.0 ± 1.5 b
<i>P. coztomatl</i>	16.3 ± 0.9 b	34.8 ± 0.6 bc	61.0 ± 0.7 b

Médias com letras diferentes indicam diferença estatística (Tukey, p ≤ 0,05)

CONCLUSÃO

O extrato metanólico do governadora (*Larrea tridentata*), é eficaz para inibir o crescimento de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* e *Rhizoctonia solani*, por até dez dias. Da mesma forma, conclui-se que o extrato metanólico de *Rosamarinus officinalis* (Alecrim) pode ser utilizado para o manejo de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* e *Rhizoctonia solani*, com menor eficácia que a da governadora.

Agradecimentos

Ao projeto Fundo Misto FOMIX-SLP (FMSLP-2013-C01-209337) pelo financiamento deste trabalho de pesquisa. Eng. Fernando Mendoza González e M.C. Sonia Castillo Gutiérrez, por sua colaboração na revisão do documento de relatório de resultados. Ao Centro de Integração de Desenvolvimento Agroecológico e Sustentabilidade "El Humedal" de Valle de Bravo, Estado do México, pelas instalações oferecidas.

LITERATURA CITADA

AL-REZA S, Rahman A, Ahmed Y, Kang S. 2010. Inhibition of plant pathogens *in vivo* and *in vitro* with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. *Pestic. Biochem. Physiol.* 96: 86-92. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2009.09.005>

BAÑUELOS-VALENZUELA R, Delgadillo-Ruiz L, Echavarría-Cháirez F, Delgadillo-Ruiz O, Meza-López C. 2018. Composición química y FTIR de extractos etanólicos de *Larrea tridentata*, *Origanum vulgare*, *Artemisa ludoviciana* y *Ruta graveolens*. *Agrociencia.* 52(3): 309-321. <http://www.colpos.mx/agrocien/Bimestral/2018/abr-may/art-2.pdf>

CÁCERES RUEDA DE LEON I, Colorado R, Salas E, Muñoz L, Hernández L. 2013. Actividad Antifúngica *in vitro* de Extractos Acuáticos de especias contra *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, *Trichoderma* spp., *Penicillium digitatum* y *Aspergillus niger*. *Rev. Mex. Fitopatol.* 31:105-112. ISSN 0185-3309. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092013000200003

CANETT-ROMERO R, Arvayo-Mata KL, Ruvalcaba-Garfias NV. 2014. Aspectos tóxicos más relevantes de *Moringa oleifera* y sus posibles daños. *Biotecnia.* 16(2):36-43. <https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/article/view/45/41>

CERQUEIRA M, Barcellos H, Bueno P, Aires J, Dummer M. 2016. Antifungal activity of plants extracts with potential to control plant pathogens in pineapple. *Asian Pac J Trop Biomed.* 6:26-31. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.09.026>

DANIA V, Fadnia O, Ayodele M, Kumar L. 2014. Efficacy of *Oryza sativa* husk and *Quercus phillyraeoides* extracts for the *in vitro* and *in vivo* control of fungal rot disease of white yam (*Discorea rotundata* Poir). *SpingerPlus.* 3:711. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-711>

DAVID M, Kumar R, Bhavani M. 2013. Experimental studies on active metabolites of *Calotropis gigantea* for evaluation of possible antifungal properties. *Int. Res. J. Pharm.* 4:250-254.

https://www.researchgate.net/publication/239524862_Experimental_Studies_on_active_metabolites_of_Calotropis_gigantea_for_evaluation_of_possible_antifungal_properties

DE QUEIROZ GM, Politi FA, Rodrigues ER, Souza-Moreira TM, Moreira RR, Cardoso CR, Pietro RC. 2015. Phytochemical characterization, antimicrobial activity, and antioxidant potential of *Equisetum hyemale* L.(Equisetaceae) extracts. *Journal of medicinal food.* 18(7):830-834.

<https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/jmf.2014.0089>

DEL PUERTO RODRIGUEZ AM, Suárez Tamayo S, Palacio Estrada DE. 2014. Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología.* 52(3): 372-387.

https://www.researchgate.net/publication/317518438_Efectos_de_los_plaguicidas_sobre_el_ambiente_y_la_salud

DUARTE Y, Pino O, Martínez B. 2013. Efecto de cuatro aceites esenciales sobre *Fusarium* spp. *Rev. Prot. Veg.* 28:232-235.

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522013000300013

FERDES M, Al Juhaimi F, Özcan M, Ghafoor K. 2017. Inhibitory effect of some plant essential oils on growth of *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Mucor pusillus* and *Fusarium oxysporum*. *S. Afr. J. Bot.* 113: 457-460. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.09.020>

GAMBOA-ALVARADO R, Hernández-Castillo F, Guerrero-Rodríguez E, Sánchez-Arizpe A. 2003. Inhibición del crecimiento Micelial de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora infestans* Mont. (De Bary) con extractos vegetales Metanólicos de Hojasén (*Flourensia cernua* D.C.), mejorana (*Origanum majorana* L.) y trompetilla [*Bouvardia ternifolia* (Ca.) Schlecht.]. *Rev. Mex. Fitopatol.* 21:13-18. <https://www.redalyc.org/pdf/612/61221102.pdf>

GARCÍA R. 2010. Agroecología y enfermedades de la raíz en cultivos agrícolas. Editorial COLPOS. México. Pp. 130. ISBN: 9786077699088.

GROVER RK, More JD. 1962. Toxicometric studies of fungicides against the brown rot organism *Sclerotinia fructivola* and *Sclerotinia laxa*. *Phytopathology.* 52:876-880.

HENAO J, Muñoz LJ, Ríos E, Padilla L, Giraldo GA. 2009. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos de la planta *Lippia origanoides* HBK cultivada en el Departamento del Quindío. *Rev Invest Univ Quindío* 19:159-64. http://blade1.uniquindio.edu.co/uniquindio/revistainvestigaciones/adjuntos/pdf/f4d9_n1918.pdf

JASSO DE RODRIGUEZ D, Hernández-Castillo D, Angulo-Sánchez JL, Rodríguez-García R, Villarreal-Quintanilla JA, Lira-Saldívar RH. 2007. Antifungal activity in vitro of *Flourensia* spp. extracts on *Alternaria* sp., *Rhizoctonia solani*, and *Fusarium oxysporum*. *Ind. Crop. Prod.* 25(2):111-116. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2006.08.007>

LIRA-SALDÍVAR R, Balvantín-García G, Hernández-Castillo F, Gamboa-Alvarado R, Jasso-de-Rodríguez D, Jiménez-Díaz F. 2003. Evaluation of Resin Content and the Antifungal Effect of *Larrea tridentata* (Sesse and Moc. Ex D.C.) Coville Extracts from Two Mexican Deserts Against *Phythium* sp. Pringsh. *Rev. Mex. Fitopatol.* 21:97-101. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61221201>

LÓPEZ-BENÍTEZ A, López-Betancourt S, Vázquez-Badillo M, Rodríguez-Herrera S, Mendoza-Elos M, Padrón-Corral E. 2005. Inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* schlechtend. F. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen, *Rhizoctonia Solani* Kühn y *Verticillium dahliae* kleb mediante extractos vegetales acuosos. *Rev. Mex. Fitopatol.* 23:183-190. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61223212>

MAZUTTI M, Mossi AJ, Cansian RL, Corazza ML, Dariva C, Oliveira JV. 2008. Chemical profile and antimicrobial activity of Boldo (*Peumus boldus* Molina) extracts obtained by compressed carbon dioxide extraction. *Brazilian Journal of Chemical Engineering.* 25(2): 427-434. https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0104-6322008000200020&script=sci_arttext

MORGULIS A, Coulourios G, Raytselis Y, Madden TL, Agarwala R, Schäffe AA. 2008. Database indexing for production MegaBLAST searches. *Bioinformatics.* 24(16):1757-1764. <https://academic.oup.com/bioinformatics/article/24/16/1757/202524>

OSORIO E, Flores M, Hernández D, Ventura J, Rodríguez R, Aguilar C. 2010. Biological efficiency of polyphenolic extracts from pecan nuts Shell (*Carya illinoensis*), pomegranate husk (*Punica granatum*) and creosote bush leaves (*Larrea tridentata* Cov.) against plant pathogenic fungi. *Ind. Crop. Prod.* 31:153-157. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.09.017>

PROMEGA 2015. Technical manual. pGEM®-T y pGEM®- T Easy Vector Systems. Instructions for use of products. <https://worldwide.promega.com/products/pcr/pcr-cloning/pgem-t-easy-vector-systems/?catNum=A1360>

RAEDER U, Broda P. 1985. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. *Letters in Applied Microbiology*. 1(1):17-20. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1985.tb01479.x>

RODRÍGUEZ A, Ramírez M, Bautista S, Cruz A, Rivero D. 2012. Actividad antifúngica de extractos de *Acacia Farnesiana* sobre el crecimiento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Revista Científica UDO Agrícola*. 12:91-96. <http://www.bioline.org.br/pdf?cg12011>

ROZMAN T, Jersek B. 2009. Antimicrobial activity of rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis* L.) against different species of Listeria. *Acta agriculturae Slovenica*, 93(1):51. <https://pdfs.semanticscholar.org/0ad5/a7c3ece5e98fa57738406ae2c819923cf3f0.pdf>

SÁNCHEZ LG, Vargas-Rincón A, Jiménez P. 2015. Evaluación de la actividad antifúngica de extractos etanólicos de dos morfotipos de *Raphanus raphanistrum* L. sobre tres hongos fitopatógenos. *Bioagro*. 27(1):3-10. <https://www.redalyc.org/pdf/857/85741584002.pdf>

SAMSIDAR A, Siddiquee S, Shaarani MS. 2018. A review of extraction, analytical and advanced methods for determination of pesticides in environment and foodstuffs. *Trends. Food. Sci. Technol*. 71:188-201. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.011>

SEETHA J, Reddy R, Ramanjaneyulu R. 2010. Evaluation of certain plant extracts and antagonist against *Fusarium solani* and *Alternaria tenuissima*, the incitants od root rot and die-back diseases of Mulberry. *Int. J. Indust. Entomol*. 20:1-5. <http://www.koreascience.or.kr/article/JAKO201019451499104.page>

STASHENKO EE, Jaramillo BE, Martínez JR. 2003. Comparación de la composición química y de la actividad antioxidante *in vitro* de los metabolitos secundarios volátiles de plantas de la familia Verbenaceae. *Rev. Acad. Colomb. Cienc*. 27(105): 579-597. ISSN 0370-3908. http://www.accefyn.com/revista/Vol_27/105/8-COMPARACION.pdf

TAMILSELVI N, Arumugam T. 2017. Breeding Approaches for Sustainable Vegetable Production—A Review. *Int. J. Curr. Microbiol. App*. 6:2845-2860. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.611.336>

TOUBA E, Zakaria M, Tahereh E. 2012. Anti-fungal activity of cold and hot water extracts of spices against fungal pathogens of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) *in vitro*. *Microb. Pathog*. 52:125-129. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2011.11.001>

VÁSQUEZ D, Montes R, Jiménez A, Flores HE. 2014. Aceites esenciales y extractos acuosos para el manejo *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *F. solani*. *Rev. Mex. Fitopatol*. 31:170-179. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092013000200008

WHITE TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JW. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. pp. 315-322 In: Innis, M. A.; Gelfand, D. H.; Sninsky, J. J.; White, T. J. (Eds.). PCR Protocols; A Guide to Methods and Applications, Academic Press, Inc., New York.

http://blade1.uniquindio.edu.co/uniquindio/revistainvestigaciones/adjuntos/pdf/f4d9_n1918.pdf

YOSSEN VE, Conles MY. 2016. Eficacia de fungicidas in vitro para el control de *Fusarium oxysporum* y *F. proliferatum*, agentes causales de marchitamiento en el cultivo de orégano en la Argentina. *Revista industrial y agrícola de Tucumán*. 91(1)19-25.

<https://riat.eeaoc.org.ar/ojs/index.php/riat/article/view/v91n1a03/33>

ZAKER M. 2014. Antifungal evaluation of some plant extracts in controlling *Fusarium solani*, the causal agent of potato dry rot *in vitro* and *in vivo*. *Inter. J. Agri. Biosci.* 3:190-195. www.ijagbio.com

ZAMORA-NATERA F, García-López P, Ruíz-López M, Salcedo-Pérez E. 2008. Composición de alcaloides en semilla de *Lupinus mexicanus* (Fabaceae) y evaluación antifúngica y alelopática del extracto alcaloideo. *Agrociencia*. 42:185-192.

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1405-31952008000200006&lng=es&nrm=iso