

Atividade “*in vitro*” de extratos de *Pycnoporus sanguineus* e *Lentinus crinitus* sobre o fitopatógeno *Fusarium* sp

Ádrya FIGUEIREDO¹, Ademir CASTRO E SILVA¹

¹ Centro de Estudos Superiores de Parintins – CESP/UEA, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia-MBT. Estrada Odovaldo Novo, s/n, Estrada do Aeroporto, Parintins, Amazonas, Brasil. adryafigueiredo@yahoo.com.br, acesilva@uea.edu.br

* Autor Correspondente: adryafigueiredo@yahoo.com.br

RESUMO

O controle alternativo de doenças de plantas tem como objetivo minimizar o impacto ambiental através da utilização de produtos naturais. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade *in vitro* de extrato aquoso e hidroalcoólico de *Pycnoporus sanguineus* e *Lentinus crinitus* contra *Fusarium* sp., conhecido por causar doenças das culturas. Os fungos foram coletados em áreas urbanas e rurais de Parintins-AM, e testados em diferentes concentrações de extratos, sendo avaliadas a inibição de crescimento micelial, a inibição da germinação de conídios e a inibição da germinação de esclerócios. Os melhores resultados de inibição do crescimento micelial foram obtidos com extratos hidroalcoólicos frios. Extratos de *P. sanguineus* obtidos em solvente hidroalcoólico frio e extrato aquoso ultrassônico e extrato de *L. crinitus* de solvente hidroalcoólico frio, inibiram mais de 92% da esporulação de conídios. Extratos aquosos quentes inibiram a germinação de escleródios, bem como o extrato de *P. sanguineus* hidroalcoólico frio. O consórcio dos fungos inibiram a germinação de escleródios em 1000 µg mL⁻¹.

PALAVRAS-CHAVE: fungicida, controle alternativo, basidiomicetos

Activity “*in vitro*” of extracts from *Pycnoporus sanguineus* and *Lentinus crinitus* on the pathogen *Fusarium* sp

ABSTRACT

The alternative control of plant diseases aims to minimize environmental impacts through the use of natural products. The objective of this work was to evaluate the *in vitro* activity of aqueous and hydroalcoholic extracts from *Pycnoporus sanguineus* and *Lentinus crinitus* against *Fusarium* sp. A fungus known to cause disease in plants. Fungus samples were collected in the urban and rural areas of Parintins-AM, and tested against different extract concentrations. Inhibition of mycelial growth, inhibition of conidial germination and inhibition of germination of sclerotia were assessed. Mycelial growth inhibition was highest with hydroalcoholic cold extracts. Hydroalcoholic and aqueous extracts from *P. sanguineus* obtained by ultrasonic atraction and hydroalcoholic cold extract from *L. crinitus* caused 92% of conidia sporulation. Aqueous hot extracts inhibited sclerotia germination in both fungi samples as well as hydroalcoholic cold extract from *L. crinitus*. Fungi consortium inhibited sclerotia germination at 1000 µg mL⁻¹ concentration.

KEYWORDS: fungicides, alternative control, basidiomycetes

INTRODUÇÃO

A maioria dos cultivos agrícolas esta sujeita a diversas doenças causadas por um conjunto amplo de fitopatógenos (Trigiano *et al.* 2010). Um dos fitopatógenos amplamente distribuído ao redor do mundo, encontrado em todos os tipos de solo ou associados a inúmeras espécies vegetais, é o fungo *Fusarium* sp. Este fungo pode sobreviver por longos períodos de forma saprofítica sobre a matéria orgânica do solo e quando possível pode causar inúmeras doenças em diferentes espécies vegetais, sobretudo em culturas de importância econômica, causando grandes prejuízos (Martins 2005).

O gênero *Fusarium* é caracterizado pelo seu crescimento rápido, colônias com coloração pálida ou colorida (violeta à púrpura escuro ou do creme à laranja), com micélio aéreo e difuso (Martins 2005). A maioria das espécies de *Fusarium* é composta por fungos de solo com distribuição cosmopolita e ativo na decomposição de substratos celulósicos das plantas, sendo que alguns isolados são parasitas das plantas. A patogenicidade ao homem é rara, mas muitas espécies causam o apodrecimento de estoques e são importantes produtoras de toxinas (Leslie *et al.* 2001; Zemankova *et al.* 2001).

As características e patogenicidade do gênero *Fusarium* o torna de difícil controle para o produtor agrícola, fazendo com que a utilização de produtos químicos seja cada vez mais abusiva. Em virtude dos danos causados pelos fungicidas sintéticos, tanto ao homem quanto ao ambiente, a exigência do mercado por produtos agrícolas livres desses químicos torna-se cada vez maior. Nesse contexto, o controle biológico em produtos agrícolas restringe a aplicação abusiva de fungicidas, sendo um importante aliado ao meio ambiente e aos consumidores de tais produtos, uma vez que estes não possuem resíduos de defensivos agrícolas (Azevedo *et al.* 2006). Dentre os agentes fúngicos que podem atuar como biocontroladores de doenças de plantas, destaca-se àqueles da classe dos Basidiomicetos, que incluem aproximadamente 1.200 espécies identificadas (Vanderlinde 2010).

As propriedades terapêuticas dos Basidiomycetes vêm sendo reconhecidas por milênios pelos povos orientais, sendo que os primeiros livros chineses sobre produtos naturais, medicinais, datam de 200 anos atrás (Vanderlinde 2010). Por isso, muitos estudos científicos foram conduzidos com basidiomas destes fungos, com a finalidade de isolar e identificar quimicamente as diversas substâncias ativas, e também determinar suas potencialidades terapêuticas (Lomascolo *et al.* 2003). Assim, o presente trabalho teve por finalidade avaliar a potencialidade *in vitro* dos extratos de basidiomicetos de *P. sanguineus* e *L. crinitus* em inibir o fitopatógeno *Fusarium* sp., isolado de culturas de alface do município de Parintins-AM.

MATERIAL E MÉTODOS

Carpóforos de *Pycnoporus sanguineus* e *Lentinus crinitus* foram coletados em áreas rurais e periurbana do município de Parintins, região do baixo Amazonas, sendo triturados e utilizados na obtenção dos extratos aquoso frio (H₂O-F), quente (H₂O-Q), ultrassônico (H₂O-US), hidroalcolólicos a frio (H-F) e quente (H-Q) na proporção de 1:1 (água:etanol). Utilizou-se extrações por meio de extrator Soxhlet, em extração média de 8 horas, em temperatura de 40°C; extração ultrassônica em ultrassom de frequência 40 kHz e potencia de 30 W, à temperatura de 50 °C por 25min de extração e a frio por 72h em recipiente âmbar. O consórcio dos fungos foi preparado com carpóforo triturado de *P. sanguineus* e de *L. crinitus* na proporção de 1:1 em 250 ml de solução hidroalcolólica (1:1). Os extratos obtidos foram concentrados em evaporador rotativo à pressão reduzida, observando-se o ponto de ebulição de cada solvente (etanol a 78,5 °C água a 100 °C).

Para o isolamento do fitopatógeno, *Fusarium* sp, fragmentos de 8 a 12 cm, de amostras vegetais de hortaliças foram pesadas e após realizar assepsia foram inoculadas, em fotoperíodo de 12h, em placa de Petri contendo meio de cultura BDA. Após o crescimento para a identificação do fitopatógeno, fragmentos das colônias fúngicas foram coradas em lactofenol azul algodão e analisados em microscópio óptico para a observação de estruturas reprodutivas, de resistência ou análise da morfologia das hifas (grampos de conexão, septação e etc.) (Hanline Menezes 1996). Os extratos fúngicos foram dissolvidos previamente em água destilada, e adicionados ao meio BDA nas concentrações de 1, 10, 100 e 1000 µgmL⁻¹, vertidos em placas de Petri, para realização dos testes: a) crescimento micelial; b) germinação de conídios e c) germinação de escleródios.

No teste do crescimento micelial discos de 5 mm de diâmetro, contendo micélio dos fungos foram transferidos para o centro das placas e incubados em BOD a 25°C em ausência de luz. A avaliação foi realizada quando as parcelas testemunhas foram completamente tomadas pelos fungos, medindo-se o crescimento radial dos fungos submetidos aos tratamentos, em duas retas perpendiculares traçadas no fundo de cada placa.

Para o experimento de inibição da germinação de conídios foi utilizado o método do celofane descrito por Nelly *et al* (1978). Dez discos de papel celofane de 0,8 cm de diâmetro foram colocados em placas de Petri sobre discos de papel filtro embebidos com 5mL da solução de cada extrato nas concentrações 1, 10, 100 e 1000 µgmL⁻¹, em triplicata. Posteriormente, uma gota de suspensão de conídios do fitopatógeno, na concentração de 10⁴ conídios mL⁻¹ foi depositada sobre cada disco de celofane. As placas assim

preparadas foram mantidas em BOD sob fotoperíodo de 12h e temperatura de 25°C.

A observação foi feita em microscópio óptico após 16h de incubação, considerando-se como germinados, aqueles que apresentassem qualquer indício de formação do tubo germinativo. A avaliação foi feita somando-se os conídios germinados com os conídios não germinados (Nesp), obtendo-se assim um total de conídios (TC) por placa de Petri, calculando-se assim a percentagem de não germinação (Nesp*100/TC).

Já na avaliação da germinação de escleródios foram inoculados 10 escleródios em placas de Petri contendo meio de cultura BDA e cada um dos extratos, nas mesmas concentrações, preparadas de forma semelhante ao experimento de inibição do crescimento micelial descrito anteriormente. Incubadas por 72h a 25°C em fotoperíodo de 12h. A avaliação foi feita medindo-se o crescimento radial dos fungos submetidos aos tratamentos, em duas retas perpendiculares traçadas no fundo de cada placa.

Enfim, para a análise estatística dos dados utilizou-se o BioEstat 5.0, onde se obteve os parâmetros descritivos (média, desvio padrão, variância) dos dados, teste de correlação entre as variáveis, teste ANOVA para verificar diferenças entre os tratamentos e de Tukey ($p < 0,05$) para contrastes das médias.

RESULTADOS

Crescimento micelial

Em comparação ao tratamento com a testemunha, houve efeito significativo, com o menor crescimento micelial os extratos H-F (Tabela 1). No extrato H₂O-Q de *P. sanguineus*, foi onde ocorreu o menor crescimento micelial do *Fusarium* sp, crescimento 60% menor, nas concentrações 1, 100 e 1000 µg mL⁻¹, e 40% na concentração de 10 µg mL⁻¹, em comparação com a testemunha. Já o extrato do basidiocarpo de *L. crinitus* obteve o melhor resultado em 10 µg mL⁻¹ com 50% a menos do crescimento. O extrato do consórcio dos fungos não revelou dados significativos em comparação aos experimentos testemunha.

O extrato H₂O-F de *P. sanguineus* proporcionou os menores valores de crescimento em relação a *L. crinitus* e consórcio desses fungos, com crescimento micelial 70% menor nas concentrações 10 e 1000 µg mL⁻¹ em relação à testemunha. Nos tratamentos com extrato de *L. crinitus* e consórcio, não houve inibição na concentração de 1 µg mL⁻¹, e nas demais concentrações variaram de 10 a 40%.

Na maioria dos tratamentos realizados em extratos H-Q, não houve inibição no crescimento micelial, em relação à testemunha. No extrato *L. crinitus*, o crescimento do *Fusarium* sp. em todas as concentrações foi maior quando comparado com a testemunha. Já para o extrato de *P. sanguineus* nas

concentrações de 1 e 10 µg mL⁻¹, o crescimento foi 80% maior do que da testemunha. Por outro lado, o extrato do consórcio desses fungos mostrou resultados equiparados com aqueles das testemunhas.

O extrato H-F dos fungos estudados, inibiu o crescimento do *Fusarium* sp em até 70% na maior concentração, 50% e 60% nas concentrações de 10 e 100 µg mL⁻¹, respectivamente. Já o extrato em consórcio não tiveram bons resultados, variando de 10 a 50% de inibição. O extrato aquoso ultrassônico dos fungos, inibiu o crescimento em 70% na maior concentração testada em relação à testemunha, e de 40 e 60%, nas concentrações 10 e 1000 µg mL⁻¹, respectivamente (Tabela 1).

Germinação dos conídios

Os melhores resultados, com mais de 92% dos conídios não germinados, obteve-se com os extratos de *P. sanguineus* em solvente H₂O-US e H-F, assim como os extratos de *L. crinitus* revelou seu melhor resultado em solvente H-F. Já para o extrato do Consórcio dos fungos o H₂O-US foi onde ocorreu o maior percentual de conídios não germinados.

A análise de dados dos extratos de basidiocarpos de *P. sanguineus* nas concentrações e solventes testados mostrou que o extrato H₂O-US nas concentrações de 10 e 100 µg mL⁻¹ e extrato H-F na concentração de 100 µg mL⁻¹ tiveram os melhores resultados, inibindo a germinação dos conídios em mais de 92%. Já na concentração de 1 e 1000 µg mL⁻¹ apresentou inibição de 34,1% e 79,8% nos solventes de extração H₂O-US e H-F, respectivamente (Figura 1).

A inibição da germinação dos conídios frente aos extratos de *L. crinitus* mostrou que o solvente H-F na concentração de 10 µg mL⁻¹ inibiu 95,4%, sendo este o melhor resultado, pois nessa mesma concentração nos diferentes solventes de extração variou entre 26 a 33%. Em 1 µg mL⁻¹ os resultados significativos são dos extratos aquosos (quente e frio) e hidroalcolico quente com 30 e 31%. Enquanto que em 100 e 1000 µg mL⁻¹ os extratos aquoso a quente e hidroalcolico a quente mostraram 49 e 65%, respectivamente (Figura 2).

A inibição da germinação de conídios acima de 90%, indica que os extratos do carpóforo dos fungos *P. sanguineus* e *L. crinitus* tem potencial inibição de conídios do *Fusarium* sp., fato que pode estar associado a liberação de compostos antimicrobiano por estes basidiomicetos. O consórcio dos fungos *P. sanguineus* e *L. crinitus* nos diferentes solventes de extração mostrou que o extrato H₂O-US foi o que apresentou inibição na germinação de conídios de 97%, 89% e 94% nas concentrações 10, 100 e 1000 µg mL⁻¹, respectivamente. Enquanto o melhor resultado na concentração de 1 µg mL⁻¹ foi o extrato H₂O-F com 47% de inibição (Figura 3).

Na tentativa de verificar o grau de relação entre as variáveis de concentração e a percentagem de conídios não germinados,

Tabela 1 - Percentual do crescimento micelial (cm) de *Fusarium* sp., contendo meio de cultura BDA + extratos de basidiomicetos nas concentrações de 1 à 1000 µg mL⁻¹.

Extrato	Fungo	Tratamentos			
		1 µg mL ⁻¹	10 µg mL ⁻¹	100 µg mL ⁻¹	1000 µg mL ⁻¹
H ₂ O-Q	<i>P. sanguineus</i>	40	60	40	40
	<i>L. crinitus</i>	80	50	60	60
	Consórcio	100	100	90	80
H ₂ O-F	<i>P. sanguineus</i>	40	30	60	30
	<i>L. crinitus</i>	90	60	70	60
	Consórcio	90	80	80	80
H ₂ O-US	<i>P. sanguineus</i>	70 ^a	50 ^a	50 ^a	30 ^a
	<i>L. crinitus</i>	70 ^a	60 ^a	40 ^a	30 ^a
	Consórcio	80 ^b	50 ^a	40 ^a	30 ^c
H-Q	<i>P. sanguineus</i>	130 ^a	180 ^b	70 ^c	80 ^a
	<i>L. crinitus</i>	130 ^a	170 ^a	170 ^a	140 ^a
	Consórcio	110 ^a	80 ^a	80 ^a	90 ^a
H-F	<i>P. sanguineus</i>	50	50	40	30
	<i>L. crinitus</i>	70	50	40	30
	Consórcio	100	50	70	80
	Testemunha	100	100	100	100

Letras iguais na horizontal significa que não há diferença estatística ao nível de 95% de probabilidade.

quatro modelos estatísticos (linear, geométrica, exponencial e logarítmico) foram testados. Os maiores índices de determinação (R²) foram obtidos para o consórcio de fungos, embora para o H₂O-US este índice sido fraco. De modo geral, o melhor modelo para se determinar o percentual de conídios não germinados em função da concentração, para *P. sanguineus* foi o logarítmico (R²=0,97) do extrato H-Q, para *L. crinitus* o logarítmico (R²=0,91) do extrato H₂O-Q e para o consórcio o geométrico (R²=0,98) do extrato H₂O-F.

Germinação dos escleródios

Os extratos aquosos obtidos pelo método à quente (H₂O-Q) e o hidroalcolólico à frio (H-F) de *P. sanguineus*, inibiram a germinação em todas as concentrações testadas. Comportamento similar ocorreu para o extrato H₂O-Q em *L. crinitus* onde não houve germinação dos escleródios (Tabela 2). Para os extratos H₂O-US e H-Q de *L. crinitus* na concentração de 1 e 10 µg mL⁻¹, também não ocorreu germinação dos escleródios. O percentual máximo de germinação nos extratos de *P. sanguineus* foi de 25% e nos extratos de *L. crinitus* foi de 38%, em relação a testemunha. Os extratos aquosos (H₂O-Q, H₂O-F) e o hidroalcolólico (H-F) do consórcio inibiram totalmente a germinação dos escleródios na concentração de 1000 µg mL⁻¹. Por outro lado, o extrato aquoso ultrassônico (H₂O-US) inibiu a germinação em concentrações mais baixa (1 e 10 µg mL⁻¹). Observa-se também que no extrato H-Q, em comparação com os outros tratamento, foi onde ocorreu o maior percentual de escleródios germinados (Tabela 2).

Quando testou-se os extratos aquoso quente e frio, e o hidroalcolólico frio do consórcio de fungos (*P. sanguineus* + *L. crinitus*), na maior concentração, não houve germinação dos escleródios. Ressalta-se, entretanto, que os extratos produzidos com o consórcio dos fungos em outras concentrações apresentaram resultados inferiores em relação aos extratos preparados com os basidiomicetos isoladamente.

DISCUSSÃO

Observa-se que os isolados de *P. sanguineus* apresentaram maior efeito inibitório sobre a não germinação de conídios e germinação de escleródios. Uma das hipóteses para explicar tal fato é que alguns isolados podem apresentar maior concentração de substâncias inibitórias ou diferir na composição dessas substâncias conforme sugerido por Tunucci (2004). Em extratos hidroalcolólicos frio (H-F) de *L. crinitus* a inibição de conídios mostrou-se melhor em concentrações menores (10 µg mL⁻¹). Com o aumento da concentração provavelmente ocorreu uma sinergia dos compostos, o que levou diminuição do efeito dos extratos.

A ação dos extratos testados parece estar associada ao tipo de extração utilizada. Ressalta-se, que a produção de extratos brutos provenientes dos carpóforos dos fungos *P. sanguineus* e *L. crinitus* é um processo que envolve a transferência de massa de um soluto de uma matriz sólida para um solvente (Cardozo-Filho *et al.* 1997). Este tipo de extração é utilizada na recuperação de compostos de interesse, e no caso do uso da água com solvente de elevada polaridade, utilizado para

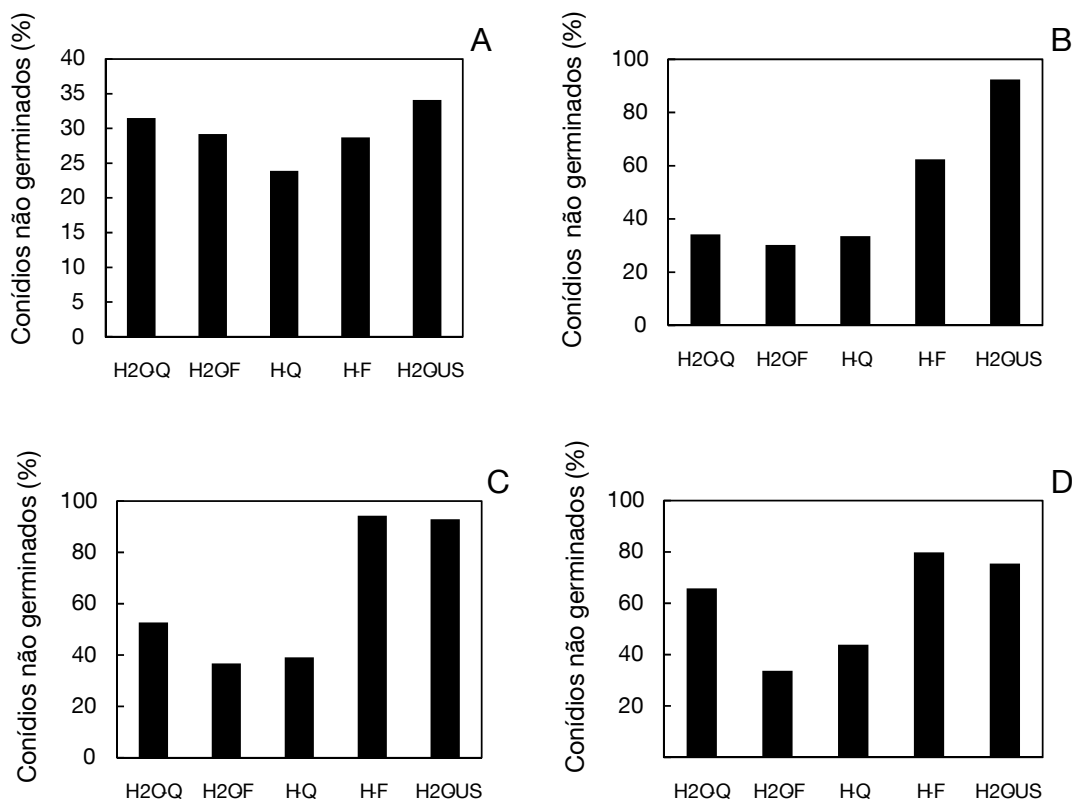


Figura 1 - Percentual de conídios não germinados na concentração de (A) 1 µg mL⁻¹, (B) 10 µg mL⁻¹, (C) 100 µg mL⁻¹ e (D) 1000 µg mL⁻¹, em extratos de *P. sanguineus* em diferentes solventes de extração. (Legenda: H₂O-Q extrato aquoso quente; H₂F-Q extrato aquoso frio; H-Q extrato hidroalcolólico quente; H-F extrato hidroalcolólico frio e H₂O-US extrato aquoso ultrassônico).

extração de compostos hidrofílicos. São esses compostos que podem estar atuando no metabolismo fúngico para inibir a germinação de escleródios de *Fusarium* sp à baixa concentração proporcionado pelo extrato aquoso dos fungos testados. Piccinin (2000), por exemplo, mostrou o efeito inibitório na germinação de *Eszeroliium turacum* e no desenvolvimento micelial de *Colletrochium sublinealum* do extrato aquoso do basidiocarpo de *Lentinula edodes* em concentrações superiores àquelas testadas na presente pesquisa.

Interessantemente para o extrato aquoso a quente de *P. sanguineus* e *L. crinitus* ocorreu a inibição total da germinação dos escleródios de *Fusarium* em todas as concentrações testadas. Jones e Kinghorn (2006) comentam que o calor necessário para realizar esse tipo de extração pode levar à decomposição de compostos termos sensíveis. Para nossos resultados, portanto, podemos inferir que a decomposição de compostos termo sensíveis, estes não teriam nenhuma influência no metabolismo do *Fusarium* para inibir a germinação dos escleródios. Neste caso, os extratos dos diferentes fungos ou teriam compostos similares que poderiam atuar na inibição ou a ação sinérgica de compostos contribuíram para esse comportamento. Ressalta-se, por outro lado, a potencialidade

do extrato aquoso do basidiocarpo de *P. sanguineus* na inibição da germinação de esporos de *C. lindemuthianum* (Baldo 2008).

Calixto (2001) comenta que a extração hidroalcolica a frio, possibilita uma extração de distintas categorias de princípios ativos, incluindo substâncias de diferentes graus de polaridade. Nosso resultado mostrou que nesse tipo de extração, o "extrato bruto total" do fungo *P. sanguineus* inibiu a germinação dos escleródios de *Fusarium* sp em todas as concentrações testadas. Resultado contrário foi obtido para o extrato do basidiocarpo de *L. crinitus* onde para esse tipo de extração não ocorreu à inibição total para quaisquer das concentrações testadas. Apesar dos extratos terem sido obtidos pelo mesmo tipo de extração, possivelmente há uma quantidade e variedade de compostos presentes que proporcionam esse comportamento diferenciado entre os extratos fungicos, conforme descrito por Oliveira *et al.* (2008).

Os resultados mostram que nas condições de extração, o extrato obtido apresenta maiores teores de compostos com atividade de inibição da germinação de escleródios e germinação de conídios de *Fusarium* sp, que podem ser compostos fenólicos, já citado por Tane Zou. (2001), Strobel

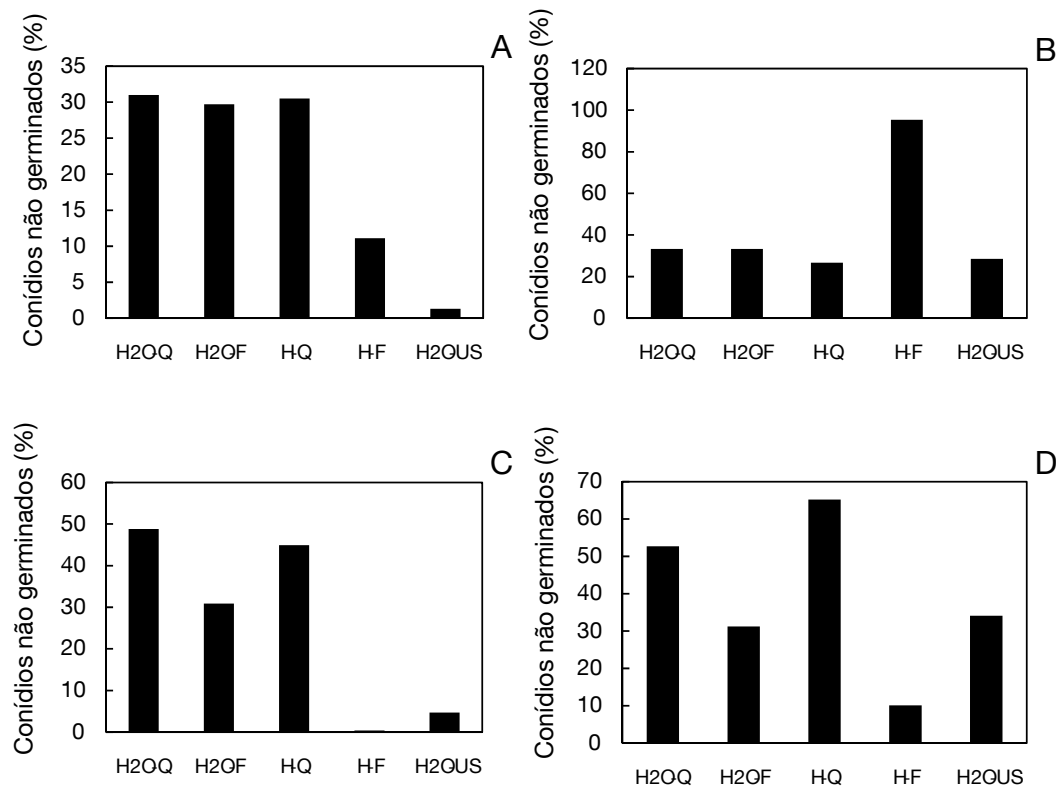


Figura 2 - Percentual de conídios não germinados na concentração de (A) 1 µg mL⁻¹, (B) 10 µg mL⁻¹, (C) 100 µg mL⁻¹ e (D) 1000 µg mL⁻¹, em extratos de *L. crinitus* em diferentes solventes de extração. (Legenda: H₂O-Q extrato aquoso quente; H₂F-Q extrato aquoso frio; H-Q extrato hidroalcolólico quente; H-F extrato hidroalcolólico frio e H₂O-US extrato aquoso ultrassônico).

al. (2004) e Valeriano *et al.* (2007), e que encontram-se ligados a outros compostos e são extraídos no pH alcalino como ocorreu nas nossas extrações.

Quanto à inibição da germinação dos conídios nos extratos aquosos de *P. sanguineus*, o método ultrassônico

apresentou o melhor resultado em todas as concentrações testadas. Segundo Luz (1998) o processo ultrassônico apresenta menor percentual de perda por retenção irreversível, significando que extrai compostos menos complexos e de menor peso molecular, provavelmente devido ao fato das ondas

Tabela 2 - Percentual de germinação dos escleródios, em relação à testemunha, de *Fusarium* sp, contendo meio de cultura BDA + extratos nas concentrações de 1 a 1000 µg mL⁻¹.

Fungo	Concentração	H ₂ O-Q	H ₂ O-F	H ₂ O-US	H-Q	H-F
<i>P. sanguineus</i>	1 µg mL ⁻¹	0	13	13	13	0
	10 µg mL ⁻¹	0	13	13	0	0
	100 µg mL ⁻¹	0	13	13	25	0
	1000 µg mL ⁻¹	0	13	25	0	0
<i>L. crinitus</i>	1 µg mL ⁻¹	0	13	0	0	13
	10 µg mL ⁻¹	0	13	0	0	38
	100 µg mL ⁻¹	0	25	13	13	13
	1000 µg mL ⁻¹	0	13	0	13	13
Consórcio	1 µg mL ⁻¹	25	25	0	25	25
	10 µg mL ⁻¹	50	25	0	38	13
	100 µg mL ⁻¹	13	13	50	75	13
	1000 µg mL ⁻¹	0	0	50	75	0
Testemunha		100	100	100	100	100

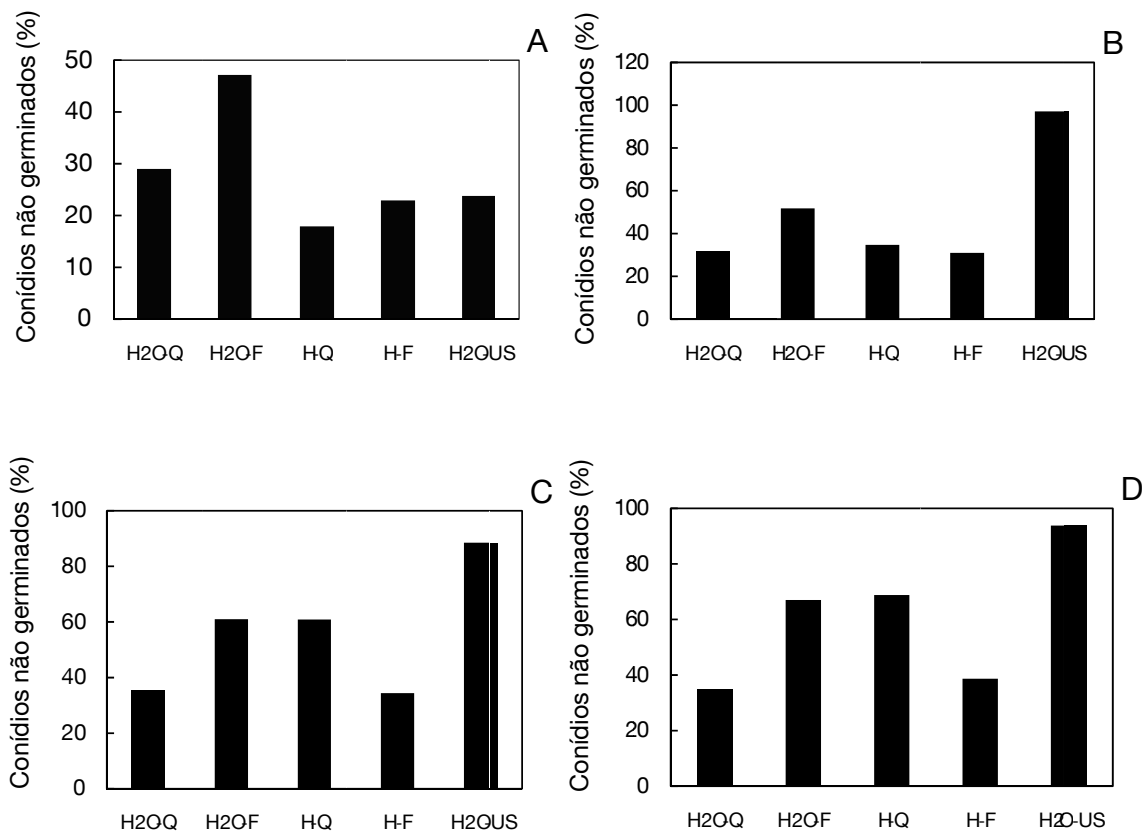


Figura 3 - Percentual de conídios não germinados na concentração de (A) 1 µg mL⁻¹, (B) 10 µg mL⁻¹, (C) 100 µg mL⁻¹ e (D) 1000 µg mL⁻¹, em extratos do consórcio de *L. crinitus* com *P. sanguineus* em diferentes solventes de extração. (Legenda: H₂O-Q extrato aquoso quente; H₂F-Q extrato aquoso frio; H-Q extrato hidroalcolico quente; H-F extrato hidroalcolico frio e H₂O-US extrato aquoso ultrassônico).

ultrassônicas provocarem rompimento de ligações fracas e a consequente redução no tamanho das moléculas extraídas.

A eficiência de extração usando técnica de ultra-som tem sido citada como igual ou melhor que a obtida com o extrator de Soxhlet (Escrivaet *al.* 1994). No presente estudo, a eficácia dos extratos obtidos com o emprego desse método não apresentou, de modo geral, resultados melhores do que àqueles obtidos com extração com Soxhlet.

Os mesmos resultados, referente à inibição da germinação dos conídios, também foram observados nos tratamentos com extrato aquoso ultrassônico do consórcio de *P. sanguineus* e *L. crinitus*, porém tais resultados provavelmente devem-se à presença do carpóforo de *P. sanguineus*, pois o mesmo teste realizado com isolado de *L. crinitus* não resultou em bons resultados no extrato aquoso ultrassônico e sim no extrato aquoso quente.

CONCLUSÃO

Os extratos de *P. sanguineus* e *L. crinitus* mostraram efeito de inibição no crescimento micelial e na germinação de conídios e escleródios do fitopatógeno *Fusarium* sp, o que torna o presente resultado com potencial para desenvolvimento de tecnologia que utilize esses extratos como alternativa para o combate de fitopatógenos prejudiciais a lavoura.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela concessão da bolsa, apoio fundamental à execução deste trabalho. E a Universidade do Estado do Amazonas, por meio da Coordenação do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia-MBT, pela oportunidade e espaço concedido para a realização deste trabalho.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- Azevedo, C. P.; Filho, A. C. C.; Hernz, G. P.; Reis, A. 2006. Recomendações de manejo da antracnose do pimentão e das pimentas. *Embrapa Hortaliças*, Brasília 35:1-4.
- Baldo, M.; Iurkiv, L.; Meinerz, C.C.; Franzener, G.; Kuhn, O. J.; Stangarlin, J. R. 2008. Controle de *Colletotrichum lindemuthianum* por derivados de *Pycnoporus sanguineus*. Congresso Paulista de Fitopatologia, Campinas. *Summa Phytopathologica*, 34:94.
- Calixto, J.B. 2001. *Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna*. Santa Catarina: Ed Argos, 2001,78-91p.
- Cardozo-Filho, L; Ferrua, F. Q; Meireles, M. A. A. 1997. Estudo do processo da extração supercrítica de óleos essenciais de produtos naturais. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos* 17:449-455.
- Escriva, C.; Viana, E.; Molto, J. C.; Pico, Y.; Manes, J. J. 1994. Comparison of four methods for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in airborne particulates. *Journal of Chromatography A*, 676:375-388.
- Hanlin, R.T. e Menezes, M. 1996. *Gêneros Ilustrados de actinomicetos*. Universidade Rural de Pernambuco, Recife. 1996, 274p.
- Jones, W. P.; Kinghorn, A. D. 2006. Extraction of plant secondary metabolites. In: Sarker, S. D.; Latif, Z.; Gray, A. I. (Ed.). *Methods in biotechnology*, v. 20, *Natural Products Isolation*, 2nd ed. Humana Press Inc., Totowa, 323-351p.
- Leslie, J.F.; Zeller, K.A.; Summerell, B.A. 2001. Icebergs and species in populations of *Fusarium*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 59:107-117.
- Lomascolo, A; Record, E; Herpoel-Gimbert, I; Delattre, M; Robert, J. L; Georis, J; Dauvrin, T; Sigoilot, J. C e Asther, M. 2003. Overproduction of laccase by a monokaryotic strain of *Pycnoporus cinnabarinus* using ethanol as inducer. *Journal Applied Microbiology*. 94:618-624.
- Luz, L. P. da. 1998. *Estudo do ultra-som como técnica de extração de carvões e caracterização dos hidrocarbonetos poliaromáticos*. Dissertação de Mestrado, Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 108p.
- Martins, M. K. 2005. *Variabilidade de Isolados de Fusarium spp. e estudo da interação com a planta hospedeira*. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP, 124p.
- Nelly, D. 1978. Laboratory and greenhouse procedures methods for evaluation fungicides, nematocides and bactericides. Minnesota: *American Phytopathological Society*. 140.
- Oliveira, M. S.; Badiale-Furlong, E. 2008. Screening of antifungal and antimycotoxigenic activity of plant phenolic extracts. *World Mycotoxin Journal*, 1: 2: 1-10.
- Piccinin, E. 2000. *Potencial de preparações do cogumelo comestível "shiitake" (Lentinula edodes) no controle de fitopatógenos fúngicos, bacterianos e virais em sorgo, maracujá e fumo*. Tese de Doutorado, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Piracicaba, 160p.
- (3,12) Many of these compounds are bioactive, and the range includes alkaloids, steroids, terpenoids, peptides, polyketones, flavonoids, quinols and phenols as well as some chlorinated compounds. Strobel, G. A, Daisy, B., Castillo, U. e Harper, J. 2004 Natural products from endophytic microorganisms. *J. Nat. Journal Natural Product*, 67:257-268.
- Tan, R.X. e Zou, W.X. 2001. Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Natural Product Reports*, 18:448-459.
- Trigiano, R. N; Windham, M. T e Windham, A. S. 2010. *Fitopatologia: conceitos e exercícios de laboratório*. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010, 576p.
- Tonucci, N. M. 2004. *Efeito de extratos aquosos de basidiocarpo e micélio de Lentinula edodes (SHIITAKE) sobre Colletotrichum sublineolum, Alternaria solani, Xanthomonas axonopodispv. passiflorae e Tobacamosaic vírus (TMV)*. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Universidade de São Paulo. 102p.
- Valeriano, V. S; Silva, A. M. F; Santiago M. F; Garcia, T. A. 2007. Estudos de Indutores para a Produção de Lacase por *Pycnoporus sanguineus*. *Revista Eletrônica de Farmácia*, 4:112-116.
- Vanderlinde, D. G. 2010. Atividade antimicrobiana de metabólitos produzidos pelo fungo *Pycnoporus sanguineus* (Linnaeus: Fries) MURRILL. *Revista Saúde e Pesquisa*, 3:11-16.
- Zemankova, M. LEBEDA, A. 2001. *Fusarium* species, their taxonomy, variability and significance in plant pathology. Review. *Plant Protection Science UZPI*, 37: 25-42

Recebido em 23/06/2012

Aceito em 12/03/2013