



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS CURITIBANOS
CURSO DE CIÊNCIAS RURAIS**

ELIS CARINE MONTEIRO

**CONTROLE ALTERNATIVO DO MOFO BRANCO (*Sclerotium
rolfsii*) NA CULTURA DE TOMATE ATRAVÉS DE EXTRATOS DE
PLANTAS**

CURITIBANOS

Novembro/2014

Elis Carine Monteiro

Controle alternativo do mofo branco (*Sclerotium rolfsii*) na cultura de
tomate através de extratos de plantas

Projeto apresentado como exigência da disciplina de Projetos em Ciências Rurais, do curso de Ciências Rurais, ministrado pela Universidade Federal de Santa Catarina sob orientação da Prof.^a Dr.^a Adriana Terumi Itako.

Curitibanos

Novembro/2014

RESUMO

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) tem origem nas proximidades da linha do Equador, na América do Sul, no Brasil foi introduzido no final no século XIX por imigrantes europeus, e é a segunda hortaliça com maior importância. O tomate é uma planta muito suscetível à doença, das quais o emprego de fungicidas, quando os mesmos são utilizados de forma inadequada, provocam danos tanto ao homem quanto ao ambiente. Entre as doenças fúngica, o mofo branco (*Sclerotium rolfsii*) é um patógeno de solo que ataca mais de 500 espécies de plantas cultivadas no mundo, dentre estas se destaca a cultura do tomate que ocorre com frequência no Brasil. Pela falta de estudos na literatura o alto índice produtos químicos é utilizado para o combate a esta doença, sendo assim tem sido empregado técnicas de controle alternativo, onde esta técnica apresentam resultados positivos e eficientes. Um dos métodos alternativos é a utilização de extrato de plantas. Os extratos de plantas possuem em sua composição, consideradas substâncias efetivas contra patógenos de plantas que são praticamente inofensivos ao meio ambiente. Com isso o presente trabalho pretende a avaliar o efeito de diferentes extratos de plantas no controle à *S. rolfsii*. Para a avaliação *in vitro* serão testados as quatro espécies que serão preparados em diferentes concentrações de, 0%, 10%, 20% e 30%, com o objetivo de definir qual a melhor concentração. Adicionados ao meio de cultura BDA. Para o teste *in vivo*, será feita a inoculação do mofo branco (*S. rolfsii*) em mudas de tomate, através de inoculação utilizando arroz beneficiado colonizado com o fungo *S. rolfsii*, para isso será realizado a homogeneização do substrato simples com o arroz colonizado, e para testemunha deverá conter grãos de arroz não colonizado, sendo assim serão utilizadas as duas melhores doses obtidas do teste *in vitro*, sendo 5 tratamentos, 10 repetições, totalizando 100 vasos sendo distribuídas uma planta por vaso.

Palavras-chave: *Equisetum giganteum* L., *Solanum lycopersicum* L. e Inoculação, Pinhão, Alecrim e Menta.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	3
2. JUSTIFICATIVA.....	4
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	5
3.1. Cultura do tomate.....	5
3.2. Mofo branco (<i>Sclerotium rolfsii</i>) na cultura do tomate	6
3.3. Controle alternativo antifúngico a partir do uso de extrato de plantas	7
3.4. Controle do Mofo branco na cultura do tomate	8
4. HIPÓTESE.....	9
5. OBJETIVOS.....	9
5.1. Geral.....	9
5.2. Específicos	10
6. METODOLOGIA	10
6.1. Obtenção e manutenção do isolado	10
6.2. Plantas utilizadas no experimento.....	10
6.3. Preparo dos extratos de plantas.....	11
6.4. Avaliação fungitóxica <i>in vitro</i> dos extratos de plantas sobre mofo branco (<i>Sclerotium rolfsii</i>) e quantificação de escleródios.....	12
6.5. Preparo de mudas.....	12
6.6. Tratamento do solo com extrato de plantas	12
6.7. Análises estatísticas	14
7. RESULTADOS ESPERADOS	14
8. CRONOGRAMA	15
9. ORÇAMENTO.....	16
10. REFERÊNCIAS	18

1. INTRODUÇÃO

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) tem origem nas proximidades da linha do Equador, na América do Sul. A partir deste, foi levado para a Europa nos anos de 1500, onde logo se tornou popular e hoje é uma planta que têm sua produção e consumo em vários países. No Brasil foi introduzido no final no século XIX por imigrantes europeus, e assim tornou-se a segunda hortaliça com maior importância, pode ser cultivado em regiões tropicais e subtropicais tendo a maior parte da produção destinada à mesa, mas vem crescendo em produção para às agroindústrias de processamento (FILGUEIRA, 2003).

O cultivo de tomate no Brasil na safra de 2013/2014 possui um total nas áreas cultivadas de 64,8 Kg/ha de rendimento médio, correspondendo assim a 100% da produção de tomate no Brasil, e cresce em 2,1% da safra anterior, produzindo 3, 965, 915 toneladas na safra de janeiro de 2014, obtendo por principais produtores os estados de São Paulo, Goiás, e Minas Gerais (IBGE, 2014), assim também como dados do IBGE 2014, mostram que em Santa Catarina têm 68,03 Kg/ha de tomate de rendimento médio, que corresponde a 4,3% da produção, produzindo um total de 169,8 toneladas na safra de janeiro 2014 (IBGE, 2014).

A agricultura tem mostrado ao longo dos anos, alta capacidade de produção em pouco tempo, e acompanhada disso, surge a grande preocupação com a alimentação saudável, pois o uso excessivo de defensivos agrícolas devido à alta produção aumenta a capacidade de plantas serem visualmente saudáveis, porém fisiologicamente não. Quando se trata de doenças de plantas, principalmente as causadas por fungos, o emprego de fungicidas, quando os mesmos são utilizados de forma inadequada, tem provocado danos tanto ao homem quanto ao ambiente (DOMINGUES et al., 2011).

Entre as doenças fúngicas, destaca-se o mofo branco (*Sclerotium rolfsii*) este é um patógeno de solo e ataca mais de 500 espécies de plantas cultivadas no mundo, dentre estas se destaca a cultura do tomate. O controle principal de doenças dessa cultura é o uso de produtos químicos, em se tratando desse patógeno, este atua em condições de umidade e altas temperaturas, e pode permanecer viável no solo por vários anos, na forma de escleródio (KIMATI et al., 2005).

Na literatura observam-se alguns estudos que mostram a utilização de métodos alternativos para o controle de vários tipos de patógenos, como por exemplo, o patógeno *S. rolfsii*. Entre estes métodos alternativos, o uso de extrato de plantas, pode ser uma

alternativa eficiente, porque nesses extratos de plantas podem conter substâncias que permitem inibir o desenvolvimento do patógeno e, principalmente, por ser um produto inofensivo ao meio ambiente, quando comparados com derivados químicos (VENZON; PAULA JÚNIOR; PALLINI, 2006).

Extratos de plantas, tais como arruda, cavalinha, alho, hortelã e eucalipto, apresentam-se eficientes no controle a diversas doenças tais como *Fusarium* sp., *Alternaria* sp. e *S. rolfsii* (VENTUROSOSO et al., 2011).

Com isso o presente trabalho visa avaliar a eficiência de extratos de plantas no controle do mofo branco (*S. rolfsii*) em tomate.

2. JUSTIFICATIVA

O tomate é uma cultura com alto índice de doenças, dentre estas o mofo branco (*S. rolfsii*) que ocorre com frequência no Brasil. O pouco conhecimento sobre o controle desta doença e pelo fato de ter pouca literatura publicada sobre sua identificação resulta na utilização de alto índice produtos químicos para o combate a doenças que não obtém resultados confirmativos e muitas vezes são usados de forma inadequada (LOPES; AVILA, 2005).

Para que se possa minimizar o problema que causa preocupação pela falta de conhecimento com relação aos produtos químicos utilizados, vêm sendo criadas práticas alternativas para diminuir o uso destes, proporcionando mais eficiência, com menos utilização de produtos químicos (STADNIK; TALAMINI, 2004), onde o método alternativo com uso de extratos de plantas se mostra eficiente e com alto potencial no tratamento do mofo branco (VENZON; PAULA JÚNIOR; PALLINI, 2006).

O presente trabalho pretende a avaliar o efeito de diferentes extratos de plantas no controle à *Sclerotium rolfsii*. Sabendo-se que, estes produtos já vêm sendo utilizados e, em parte, já apresentam resultados positivos e eficientes em outros patossistemas. Portanto, novos estudos que dedicam-se em avaliar a atividade antifúngica e, demonstrar a eficiência de novos produtos podem auxiliar no controle desta doença.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Cultura do tomate

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) trata-se de uma Solanaceae e teve seu centro primário em um estreito território que possui limite ao norte do Equador, sul do Chile e oeste do oceano Pacífico e a leste da Cordilheira dos Andes (REBELO et al., 2000), ainda antes da colonização espanhola, o tomateiro foi levado para o México, onde este se torna centro secundário do tomate, passando a ser tanto cultivado quanto melhorado, de início era considerado uma planta ornamental devido a falta de conhecimento quanto a toxidade para uso culinário (FILGUEIRA, 2003).

O tomate é uma herbácea, e possui um caule flexível e incapaz de suportar o peso dos frutos, mantendo a posição vertical, necessitando assim para o seu cultivo o auxílio de varas, para que tome a forma vertical e bem se desenvolver. Sua cultura é anual possuindo de quatro a sete meses de ciclo de vida, sendo que de 1 a 3 meses tem-se a colheita que também se inclui nesse ciclo. A floração e frutificação ocorrem junto com o crescimento vegetativo possuindo folhas pecioladas, compostas por número de ímpar de folíolos (FILGUEIRA, 2003).

O tomate é a hortaliça mais popular existente na culinária brasileira, e há indícios de que sua pigmentação denominada licopeno encontrado em altas concentrações, é um excelente preventivo ao câncer de próstata (LOPES; AVILA, 2005). Sua produção e cultivo se estendem em todas as regiões do Brasil, onde na safra de 2013/2014 obteve-se um total de 64,8 Kg/ha de cultivo de tomate de mesa (IBGE, 2014).

O Brasil tem o cultivo do tomate como sendo a sua segunda maior produção, quando o assunto são as hortaliças e está entre os 10 países com maior produção de tomate (GUALBERTO; OLIVEIRA; GUIMARÃES, 2007), onde a produção brasileira de tomates em agosto de 2013, fora estimada em 3.838.092 toneladas, o que indicou um crescimento de 1,0% em relação ao mês anterior (IBGE, 2013).

Dentre os estados que se cultiva o tomate destacam-se o estado de Goiás como sendo o maior produtor brasileiro de tomate, possuindo 1.230.512 toneladas, que representa 32,1% do total, seguido por São Paulo que possui 17,6%, Minas Gerais 13,5%, Paraná com 7,3%, Bahia 5,1% e Rio de Janeiro com 4,7% (IBGE, 2013).

Em Santa Catarina a maior produção situa-se no planalto catarinense tais como nas cidades de Caçador, Lages, Joaçaba e Joinville, onde Caçador vêm crescendo em cultivo e produção (MUELLER et al., 2008). Em Santa Catarina possui 68,03 Kg/ha de tomate de rendimento médio, que corresponde a 4,3% da produção, produzindo um total de 169,8 toneladas na safra de janeiro de 2014 (IBGE, 2014).

O tomate é uma cultura com alto índice de doenças, que são provocadas por diversos agentes tanto bióticos quanto abióticos. Muitas vezes se torna difícil à diagnose de uma determinada doença a campo (AGRIANUAL, 2011).

A partir deste fato, aliado à falta de conhecimento técnico para diagnose dessa doença no Brasil, pelo fato de escassez na literatura publicada sobre identificação de doenças em plantas, acaba se utilizando uma grande quantidade de produtos químicos para o combate as doenças tais como o mofo branco (*S. rolfsii*) (LOPES; SANTOS, 1994).

3.2. Mofo branco (*Sclerotium rolfsii*) na cultura do tomate

O fungo *Sclerotium rolfsii* conhecido pelo causador de mofo-branco, murcha-de-escleródio ou podridão de escleródio em tomate, trata-se de um fungo de solo, que têm sua estrutura de resistência dependente de estado dormente para sobreviver, sendo estas hifas septadas e finas que se aglomeram e formam o chamado escleródio (TRIGIANO; WINDHAM; WINDHAM, 2010) que pode sobreviver no solo durante muitos anos, mesmo na ausência de seu hospedeiro (SERRA; SILVA, 2005).

Este fungo atinge mais de 500 espécies diferentes e têm provocado perdas às culturas, e na cultura do tomate se associa devido à umidade no interior das plantas e do contato que pode ter a planta como ramas e frutos com o solo (LOPES; AVILA, 2005).

Os sintomas deste são caracterizados através de diversas formas, sendo caracterizado por denominar-se podridão de escleródio, mofo branco e murcha-de-escleródio onde:

A doença aparece em pequenas reboleias ou em plantas isoladas. O principal sintoma é a murcha da planta, provocada pela destruição do tecido da base do caule, onde podem ser vistos sinais do patógeno: crescimento micelial branco cotonoso, com ou sem a presença de escleródios (LOPES; AVILA, 2005).

Os danos que podem ser causados por esse fungo na planta de tomate, diz respeito à evolução dessa doença causando o apodrecimento das raízes onde o ataque à planta jovem pode levar até ao tombamento. Em solos extremamente úmidos, principalmente em tomate rasteiro tem-se o micélio branco bem visível na base do caule, o que evidencia o surgimento desse fungo, caracterizando o denominado mofo branco (LOPES; AVILA, 2005).

3.3. Controle alternativo antifúngico a partir do uso de extrato de plantas

Ao longo dos anos, o uso de produtos químicos vem aumentando e por consequência disso aplicado de forma inadequada na maioria das vezes, comprometendo a saúde tanto de quem aplica, quanto de quem consome, causando assim danos ao ecossistema em que se encontra e impactos a sociedade rural que muitas vezes desconhece do uso adequado desses produtos, o que causa para o Brasil um problema de ordem social (MOREIRA et al., 2002).

Devido a questões sociais envolvidas, vêm sendo criadas práticas alternativas para que se desenvolvam diferentes linhas de pensamento tais como, uma agricultura orgânica, biodinâmica, com manejos adequados (RECENA; CALDAS, 2008), de forma a diminuir o uso de produtos químicos, que possam prejudicar a saúde, meio ambiente e também afetar o produtor em questões econômicas de forma a não prejudicar seu rendimento no mercado, mas sim proporcionar mais eficiência em seu produto, com menos utilização de defensivos agrícolas (STADNIK; TALAMINI, 2004).

Métodos alternativos com a utilização de extrato de plantas são combinados a partir da forma que a planta hospedeira seja menos vulnerável ou mais resistente ao ataque de patógenos, onde as condições ambientais não favoreçam esse ataque para que o patógeno não seja introduzido na lavoura, com isso o método alternativo por uso de extrato de plantas gera um novo modelo de produção para as novas tecnologias que visem o não uso de defensivos agrícolas (VENZON; JÚNIOR TRAZILBO; PALLINI, 2006).

Os extratos de plantas atuam como forma de potencial antifúngico, no processo de testar várias espécies de plantas onde, dentre as diversas plantas existentes na flora brasileira tratam-se de plantas medicinais, e tem-se a ação no controle ao que diz respeito de doenças de plantas podendo ser ou por atividade fungitóxica ou como indutor da produção de fitoalexinas (VENZON; JÚNIOR TRAZILBO; PALLINI, 2006).

Os extratos de plantas possuem em sua composição, as consideradas substâncias efetivas contra patógenos de plantas, que são praticamente inofensivos ao meio ambiente, quando se compara com derivados sintéticos (CUNICO et al., 2004). Estudos indicam que existem muitas plantas capazes de possuir atividade antifúngica sobre métodos de extração, onde estas são capazes de inibir a ação de fitopatógenos de forma a contribuir para uma agricultura alternativa (SILVA et al., 2012).

Dentre as espécies utilizadas para extrato, destacam-se algumas que já possuem resultados satisfatórios, em vários os tipos de patógenos tais como, *Plasmopora viticola*, *Sclerotium rolfsii*, *Alternaria alternata* e *Fusarium* sp. (VENZON; JÚNIOR TRAZILBO; PALLINI, 2006), sendo os extratos de cravo da índia *Syzygium aromaticum*, menta (*Mentha* sp. L.), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), capim limão (*Cymbopogon citratus*) e extrato de aquoso de alho (*Allium sativum*). A diversidade existente de substâncias ativas em plantas medicinais permite o processo de diversos estudos que comprovam essa ação antifúngica contra fitopatógenos existentes nas culturas agrícolas (VENTUROSO et al., 2011; BALBI-PEÑA, et al. 2006). Outra planta bastante conhecida na região do Planalto catarinense é a *Araucária angustifolia* que têm mostrado eficiência em relação ao seu extrato no controle de fungos tais como *Pythium* sp. (CASTANHA, et al., 2014), além disso segundo Itako et al. (2008) a utilização de extratos de plantas através de pesquisas desenvolvidas, têm indicado potencial no controle de fitopatógenos, por sua ação fungitóxica direta e por alterações fisiológicas nas plantas de tomate.

Além do controle alternativo utilizando-se de extratos de plantas medicinais, que possuem princípios ativos capazes de possuir defesa contra fitopatógenos, a utilização de extratos de plantas também mostra eficiência na resistência induzida, que proporcionam a planta, uma vez imunizada, ter seus mecanismos de defesa ativados por um longo período de tempo (ITAKO, et al., 2009).

3.4. Controle do Mofa branco na cultura do tomate

O controle de *Sclerotium rolfsii*, é um controle difícil devido, a vasta gama de hospedeiros apresentada pelo fungo, onde este pela longa sobrevivência no solo é capaz de atacar também mais de 500 culturas diferentes (KIMAT, et al., 2005), com isso surge a grande preocupação em encontrar um controle e tratamento certo para este adotando-se de

novas estratégias de manejo integrado dessa doença que reduz a população do fungo no solo bem como suas fontes de inóculo no solo (FARIA; BUENO; PAPA, 2009).

Um dos métodos mais utilizados para o controle desse patógeno de solo é a rotação de cultura, onde também a sanitização e a aração profunda do solo são práticas culturais importantes no manejo da doença, outra forma de controle é a solarização do solo que se constitui numa estratégia de controle para o manejo de mofo branco (*S. rolfsii*) nas chamadas condições de campo (MARTINS, et al., 2010).

Devido ao fato de que o escleródio é uma estrutura de resistência forte, as medidas de controle se tornam difícil, porém as medidas de controle de outras doenças podem propiciar bom controle para o mofo branco (DUARTE, et al., 2014), mas em se tratando de controle químico, os fungicidas à base de iprodione, PCNB (Pentacloronitrobenzeno) bem como procimidone são os mais recomendados no mercado, o que causa um problema pois, não existe especificamente um fungicida para a cultura do tomate controlando esse fungo, sendo assim necessário a utilização de outros fungicidas que propiciem ação de controle para essa cultura (KIMATI, et al., 2005).

4. HIPÓTESE

A utilização de métodos alternativos através do uso de extratos de plantas (cavalinha, menta, alecrim e água de pinhão), permite obter o controle do mofo branco em tomate (*Solanum lycopersicum* L.).

5. OBJETIVOS

5.1. Geral

Avaliar os possíveis efeitos antifúngicos de extratos de cavalinha (*Equisetum giganteum* L.), menta (*Mentha* sp. L.), alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e água de pinhão (*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze), no controle de *Sclerotium rolfsii* na cultura do tomate, na região do Planalto catarinense.

5.2. Específicos

Avaliar o efeito *in vitro* dos extratos brutos aquosos de cavalinha (*Equisetum giganteum* L.), menta (*Mentha* sp. L.), alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e água de pinhão, no controle de crescimento micelial de *Sclerotium rolfsii* em meio de cultura.

Analisar a germinação e o crescimento micelial de escleródios de *Sclerotium rolfsii* quando tratado com os extratos de cavalinha (*Equisetum giganteum* L.), menta (*Mentha* sp. L.), alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e água de pinhão (*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze).

Testar diferentes doses dos extratos de cavalinha (*Equisetum giganteum* L.), menta (*Mentha* sp. L.), alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e água de pinhão (*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze) na condição de plântulas de tomate *in vivo* em condições a campo.

6. METODOLOGIA

6.1. Obtenção e manutenção do isolado

Será utilizado o isolado de mofo branco (*S. rolfsii*), obtido a partir da coleção de fungos fitopatogênicos do laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal de Santa Catarina do campus Curitibanos.

Para que se obtenha o isolado, bem como as estruturas desenvolvidas do patógeno, este será cultivado em meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA). Para obter a maturação do patógeno em seus diferentes níveis de estágio de desenvolvimento, onde o crescimento micelial irá ocorrer e se multiplicar formando escleródios, por maturação final, que serão utilizados nos experimento. De acordo com a metodologia de Serra e Silva (2005).

6.2. Plantas utilizadas no experimento

As plantas de menta (*Mentha* sp. L.) e alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) serão obtidas da horta presente na área de pesquisa nas proximidades da casa de vegetação do campus UFSC-Curitibanos, a água de pinhão (*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze) será obtida através de casca de pinhão, adquiridas no comercio local de Curitibanos – SC.

Para a cavalinha (*Equisetum giganteum* L.), será obtida através da coleta a campo na região de Curitiba - SC.

6.3. Preparo dos extratos de plantas

Para o preparo de extratos, será utilizado o extrato bruto aquoso para as plantas utilizando-se de sua parte aérea de cavalinha (*Equisetum giganteum* L.), menta (*Mentha* sp. L.) e alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) sendo feito a obtenção através do extrato bruto aquoso, com as amostras vegetais sendo imersas ao hipoclorito de sódio a 3% por 3 minutos e mergulhada em água destilada para bem esterilizar as amostras vegetais e, (VENZON; PAULA JÚNIOR; PALLINI, 2006) assim prosseguir com a trituração separadamente com o auxílio de um liquidificador com uma concentração de 200g/L sendo filtradas em gaze para obter apenas o extrato líquido sem qualquer material vegetal assim como mostra o esquema da figura 1 (STADNIK; TALAMINI, 2004).



Figura 1: Obtenção do extrato bruto. A) Cavalinha, B) Menta, B) Alecrim, D) Pinhão E) Hipoclorito 3%, F) Mergulho em água destilada, G) Trituração, H) Filtração e I) Extrato formado. **Fonte:** Autor do projeto.

Já para água de pinhão (*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze), serão utilizadas brácteas que vão ser trituradas, e em seguida posta a fervura das mesmas em água destilada por duas horas (STOLBERG et al., 2014), e logo após esses extratos serão postos em erlenmeyers de para que assim possam ser classificados quanto a suas devidas concentrações e identificação referente ao seu extrato assim como mostra a figura 2 (VENZON; PAULA JÚNIOR; PALLINI, 2006).



Figura 2: Obtenção de água de pinhão

Fonte: Autor do projeto

6.4. Avaliação fungitóxica *in vitro* dos extratos de plantas sobre mofo branco (*Sclerotium rolfsii*) e quantificação de escleródios

Para a avaliação *in vitro* dos extratos de plantas, serão preparados de início a diluição desses extratos em diferentes concentrações (0%, 10%, 20% e 30%), para os extratos serão incorporados ao meio de cultura BDA, após o meio será autoclavado e distribuído em placas de Petri (90 mm x 10/20 mm) em 5 repetições, sendo estas armazenadas pelo período de 24 horas até que o meio solidifique, adaptando a metodologia de Balbi-Peña et al (2006).

Após o período de solidificação do meio, será feito a inoculação de um escleródio do isolado de mofo branco (*S. rolfsii*) já obtido anteriormente, serão distribuídas 5 repetição e cada repetição será incubada a 25° C em um fotoperíodo de 12 horas utilizando-se assim da câmara de fotoperíodo para esse procedimento.

Dados de crescimento micelial serão realizadas medidas diárias do diâmetro das colônias existentes, desde 24 horas após a inoculação, até o momento em que as colônias fúngicas do tratamento utilizado como controle, ocuparem toda a superfície do meio de cultura, e assim após 15 dias quantificar quantos foram os escleródios formados comparando os extratos e suas determinadas concentrações.

6.5. Preparo de mudas

Primeiramente serão semeadas sementes de tomate da variedade Santa Cruz em bandeja de isopor, utilizando de duas bandejas, contendo 128 células, sendo que cada uma dessas células receberá duas sementes de tomate e após 15 dias de cultivo será feito o raleio após mais 15 dias totalizando 30 dias estágio de desenvolvimento da planta, após esse período as mudas serão transplantadas para vasos de 3L (FILGUEIRA, 2003).

6.6. Tratamento do solo com extrato de plantas

O experimento consiste na avaliação do crescimento micelial e formação da germinação de escleródios na planta, sendo o escleródio a formação final do desenvolvimento de *Sclerotium rolfsii*. Para isso, o solo que será utilizado será o substrato simples. Serão transplantadas mudas de tomate da variedade Santa Cruz, em vasos de 3L

conforme o item 6.5, estas receberão tratamento das diferentes concentrações de cavalinha (*Equisetum giganteum* L.), menta (*Mentha pulegium* L.), alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e água de pinhão (*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze) nas duas melhores doses obtidas em teste *in vitro*.

Para a preparação de inóculo mofo branco (*S. rolfsii*) em mudas de tomate, sendo possível verificar a incidência deste, no caule da planta próximo ao solo, quando feito o método de primeiramente submeter grãos de arroz beneficiados em água destilada por duas horas e em seguida autoclavar a 120 °C durante 20 minutos, onde é feita a distribuição sobre colônias de *S. rolfsii* que por assim crescerem em placas de Petri com meio de cultura Batata-Dextrose-Agar (BDA) durante um período de sete dias em incubadora a 25 °C em regime de fotoperíodo de 12 horas sendo assim será realizado esse método de inoculação para que possa ser realizado a inoculação no substrato simples que será utilizado nos vasos contendo a planta de tomate (BARBOSA, et al., 2010).

Os grãos de arroz já colonizados em sua totalidade após o período de incubação, serão incorporados e homogeneizados ao substrato de hortaliça, antes do transplante das mudas na concentração de 8g/L de solo, por tratamento, pois de acordo com Barbosa et al. (2010), essa é a dose que apresenta maior eficiência no processo de inoculação, sendo utilizadas 100 plantas, sendo uma em cada vaso, possuindo uma testemunha com grãos de arroz não colonizados, sendo assim 5 tratamentos, com 10 repetições, em distribuição de uma planta por vaso. Após a infestação do solo, este será irrigado uma vez ao dia sendo aplicadas as doses de extrato bruto aquoso de plantas e, após será realizado a viabilidade do escleródio no solo.

As duas melhores concentrações que por assim apresentaram maior eficiência, das 4 plantas diferentes, obtidas através do teste *in vitro*, juntamente com uma testemunha absoluta que será utilizada como substrato de hortaliça contendo arroz não colonizado, serão utilizadas para o experimento *in vivo*.

Serão avaliadas *in vivo* a incidência da doença, como a presença de plantas com sintomas de necrose e constrição do colo devido à murcha-de-esclerócio causada pelo mofo branco (*Sclerotium rolfsii*).

6.7. Análises estatísticas

O experimento será feito de acordo com variáveis obtidas através das diferentes concentrações, sendo avaliado o crescimento micelial e formação de escleródios desses, e qual tratamento é mais eficiente. Para esse experimento o delineamento será o delineamento inteiramente casualizado (GOMES; GARCIA, 2002), possuindo 16 tratamentos. O delineamento será o delineamento inteiramente casualizado (DIC) possuindo 4 tipos de plantas diferentes em 4 concentrações cada, com 5 repetições.

Para as análises estatísticas, será utilizado o programa RStudio, para o cálculo e significância de cada parâmetro para a ANOVA. Análises de variância bem como teste de significância a 1% de probabilidade e também a 5% de probabilidade de acordo com o fator F obtido nesse experimento, dando sequencia a também realizar teste de Tukey para as doses a 1% e 5% de probabilidade e análise de regressão, com auxílio do mesmo programa RStudio, para que assim possa ser definida a melhor concentração dos extratos brutos aquosos de plantas utilizadas neste experimento (GOMES; GARCIA, 2002).

O delineamento utilizado será o mesmo utilizado para o teste *in vitro*, ou seja, delineamento inteiramente casualizado (GOMES; GARCIA, 2002), sendo utilizado 5 tratamentos (4 extratos e uma testemunha) em 5 repetições, totalizando 100 vasos. Por fim serão assim inoculados escleródios nas mudas de tomate, sendo que cada vaso possuirá uma planta de tomate.

7. RESULTADOS ESPERADOS

Através da realização deste projeto espera-se obter conhecimentos dos efeitos dos extratos de diferentes espécies de plantas sobre o desenvolvimento de escleródios do fungo *Sclerotium rolfsii* causador do mofo branco.

Espera-se com a realização deste trabalho, que os resultados encontrados venham a ser publicados em eventos de caráter científico, e ainda que contribua para pesquisas a serem desenvolvidas no controle do mofo branco no tomateiro.

9. ORÇAMENTO

Descrição	Qtidade. (un.)	Valor Unitário (R\$)	Valor total (R\$)
MATERIAL PERMANENTE			
Câmara de Fluxo Laminar *	1	R\$ 11.200,00	R\$ 11,200,00
Câmara Incubadora BOD *	1	R\$ 5.995,00	R\$ 5,995,00
Espátula	1	R\$ 9,99	R\$ 9,99
Liquidificador	1	R\$ 100,00	R\$ 100,00
Microscópio estereoscópio *	1	R\$ 1.499,00	R\$ 1,499,00
Autoclave vertical 50L	1	R\$ 6.000,00	R\$ 6,000,00
Subtotal de Material Permanente			R\$ 24,803,99
MATERIAL DE CONSUMO			
Substrato de hortaliças	6	R\$ 22,00	R\$ 132,00
Vasos de plástico 3L	50	R\$ 4,00	R\$ 200,00
<i>Reagentes</i>			
Batata dextrose ágar	3	R\$ 180,00	R\$ 450,00
Hipoclorito de sódio	3	R\$ 15,00	R\$ 45,00
Álcool Etílico absoluto	10	R\$ 12,00	R\$ 120,00
<i>Vidrarias</i>			
Placas de Petri	85	R\$ 4,00	R\$ 340,00
Becker de 50 mL	10	R\$ 4,20	R\$ 42,00
Becker de 250 mL	10	R\$ 4,90	R\$ 49,00
Proveta graduada de 50 mL	4	R\$ 8,73	R\$ 34,92
Proveta graduada de 100 mL	2	R\$ 9,83	R\$ 19,66
Erlenmeyer graduado 250 mL	17	R\$ 6,00	R\$ 102,00
Erlenmeyer graduado 1 L	4	R\$ 17,90	R\$ 71,60
Lamparina de vidro	1	R\$ 16,90	R\$ 16,90
<i>Outros</i>			
Algodão	1	R\$ 10,00	R\$ 10,00
Caixa de fósforo	3	R\$ 4,50	R\$ 13,50
Caneta esferográfica	5	R\$ 1,20	R\$ 6,00

Caneta marcadora de vidro e plástico	5	R\$ 2,50	R\$ 12,50
Funil de plástico	4	R\$ 2,99	R\$ 11,96
Peneira	2	R\$ 5,50	R\$ 11,00
Pipeta de Pasteur 3 mL	1	R\$ 21,90	R\$ 21,90
Bandeja de isopor	2	R\$ 10,00	R\$ 20,00
Arroz beneficiado 1 Kg	3	R\$ 3,19	R\$ 9,57
Sementes de tomate 50 g	2	R\$ 3,00	R\$ 6,00
Saco Plástico Transparente	1	R\$ 11,90	R\$ 11,90
Pinça	1	R\$ 12,00	R\$ 12,00
Compressa de Gase	1	R\$ 26,00	R\$ 26,00
Parafilm	1	R\$ 98,00	R\$ 98,00
Resma de papel A4	1	R\$ 15,00	R\$ 15,00
Cartucho para impressora	2	R\$ 45,00	R\$ 90,00
Luvas de látex sem pó (Tamanho P)	1	R\$ 18,00	R\$ 18,00
Papel de alumínio	1	R\$ 6,50	R\$ 6,50
Subtotal do Material de Consumo			R\$ 2,022,91
RECURSOS HUMANOS			
Bolsa (1 bolsa x R\$ 450,00 x 12 meses)	1	R\$ 450,00	R\$ 5400,00
Subtotal dos recursos humanos			R\$ 5400,00
Total			R\$ 32,226,90

*Equipamentos disponíveis na UFSC

10. REFERÊNCIAS

AGRIANUAL 2012. **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo, 2011.

BALBI-PEÑA, María; BECKER, Andrea; STANGARLIN, José Renato; FRANZENER, Gilmar; LOPES, Mário C.; SCHWAN-ESTRADA, Kátia R. F. Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e curcumina: I. avaliação *in vitro*. **Fitopatologia brasileira**, Maringá, v.31, n.3, p. 310-314, 2006.

BARBOSA, Rosianne Nara Thomé; HALFELD-VIEIRA, Bernardo de Almeida; NECHER, Kátia de Lima; SOUZA, Giovanni Ribeiro de. Método para inoculação de *Sclerotium rolfsii* em tomateiro. **Revista Agroambiente**, Boa Vista, v. 4, n. 1, p. 49-52, 2010.

CASTANHA, Rodrigo Fernandes; SCRAMIN, Shirlei; CASTRO, Karina Neoob de Carvalho; MORAIS, Lilia Aparecida Salgado de. **Atividade inibitória de extratos de plantas no crescimento de *Pythium aphanidermatum***. EMBRAPA. [2011]. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/35947/1/48-Lilia-Aparecida-Salgado-de-Morais-01corrigido.pdf>. Acesso em: 21 set. 2014.

CUNICO, M.M.; CARVALHO, J.L.S.; SILVA, V.C.; MONTRUCCHIO, D.P.; KERBER, V.A.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; AUER, C.G.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G. Avaliação antifúngica de extratos obtidos de *Ottonia martiana* Miq. (Piperaceae) sobre três fitopatógenos. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.71, (supl.), p.1-749, 2004.

DOMINGUES, R. J.; YOUNG, M.C. M.; TÖFOLI, J. G.; MATHEUS, D. R. Potencial antifúngico de extratos de plantas e de basidiomicetos nativos sobre *Colletotrichum acutatum*, *Alternaria solani* e *Sclerotium rolfsii*. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v.37, n.3, p.149-151, 2011.

DUARTE, Maria de Lourdes Reis; TABARANÃ, Maria Gorette Ferreira; ALBUQUERQUE, Fernando Antônio Beviláqua de; MORAES, Alessandra Jackeline Guedes de. **Controle Químico da Podridão das estacas (*Sclerotium rolfsii*) da Pimenteira-do reino**. EMBRAPA. [2006]. Disponível em: http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/27872/1/com_tec.157.pdf. Acesso em: 22 set. 2014.

FARIA, Flaviana Andrade; BUENO, César Júnior; PAPA, Marli de Fátima Stradioto. Atividade fungitóxica de *Momordica charantia* L. no controle de *Sclerotium rolfsii* Sacc.. **Acta Sci. Agron.**, Campinas, v.31, n.3, p. 383-389, 2009.

FILGUEIRA, Fernando Antonio Reis. **Novo manual de olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2.ed. rev. e ampl. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2003. 412p.

GOMES, Frederico Pimentel; GARCIA, Carlos Henrique. **Estatística aplicada à experimentos agrônômicos e florestais: exposição com exemplos e orientações para uso de aplicativos**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 309p.

GUALBERTO R; OLIVEIRA, P. S. R; GUIMARÃES, A. M. Desempenho de cultivares de tomateiro para mesa em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 244-246 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA-IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Rio de Janeiro v.27 n.01 p.1-85, 2014.

ITAKO, A. T.; SCWAN-ESTRADA, K. R. F.; TOLENTINO JÚNIOR, J. B.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. D. S. Atividade antifúngica e proteção do tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Tropical Plant Pathology**, Maringá, v. 33, n. 3, p. 241-244, 2008.

ITAKO, A.T.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN J.R.; TOLENTINO JÚNIOR, J. B.; CRUZ, M.E.S. Controle de *Cladosporium fulvum* em tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 1, p.75-83, 2009.

KIMATI, Hiroshi; AMORIM, Lilian; BERGAMIN FILHO, Armando; REZENDE, Jorge A. M. **Manual de fitopatologia**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. 2 v. 663p.

LOPES, Carlos Alberto; ÁVILA, Antônio Carlos de. **Doenças do tomateiro**. 2. ed. Brasília, DF: EMBRAPA Hortaliças, 2005. 151p.

MARTINS, Marlon Vagner Valentim; SILVEIRA, Silvaldo Felipe; MUSSI-DIAS, Vicente; VIEIRA, Henrique Duarte. Efeito da temperatura e umidade do substrato na viabilidade de *Sclerotium rolfsii*. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 2, p. 217-222, 2010.

MOREIRA, Josino C. et al. Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, RJ. **Ciência e Saúde Coletiva**. 2002, v.7, n.2, p. 299-311.

MUELLER, S.; WAMSER, A. F.; BECKER, W. F.; SANTOS, J. P. D. **Indicações técnicas para o tomateiro tutorado na Rergião do Alto Vale do Rio do Peixe**. Florianópolis: EPAGRI - Empresa de Pesquisa Agropecuária e Difusão de Tecnologia de SC, 2008.

REBELO, Jose Angelo; BRAUN, Roque Lino; MELO, Julio Cesar; BOEING, Guido. **Cadeias produtivas do Estado de Santa Catarina: tomate**. Florianópolis: EPAGRI - Empresa de Pesquisa Agropecuária e Difusão de Tecnologia de SC, 2000. 67p. (EPAGRI. Boletim técnico, 113.).

RECENA, Maria Celina Piazza; CALDAS, Eloisa Dutra. Percepção de risco, atitudes e práticas no uso de agrotóxicos entre agricultores de Culturama, MS. **Rev. Saúde Pública**, Campo Grande, 2008, v.42, n.2, p. 294-301.

SERRA, Ilka Márcia R. de S.; SILVA Gilson S. da. Caracterização Biológica e Fisiológica de Isolados de *Sclerotium rolfsii* Obtidos de Pimentão no Estado do Maranhão. **Fitopatologia brasileira**, São Luís, v.30, n.1, p. 61-66, 2005.

SILVA, Jhonata Lemos da; TEIXEIRA, Raimundo Nonato Vieira; SANTOS, Danielle Ivana Pereira; PESSOA, Jonas Onis. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o crescimento *in vitro* de fitopatógenos. **Revista Verde**, Mossoró, v.7, n.1, p. 80 – 86, 2012.

STADNIK, Marciel Joao; TALAMINI, Viviane. **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: UFSC, Centro de Ciências Agrárias, 2004. 294p.

STOLBERG, J.; GEREMIAS, R.; OLIVEIRA, L. J. G. D. MATIAS, C. A. **Remoção de rodamina b por biosorção utilizando brácteas de *Araucária angustifolia***. Disponível em: <http://www.sbpcnet.org.br/livro/65ra/resumos/resumos/8515.htm> Acesso em: 21 ago. 2014.

TRIGIANO, Robert N.; WINDHAM, Mark T.; WINDHAM, Alan S. **Fitopatologia: Conceitos e Exercícios de Laboratório**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 575p.

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

VENZON, Madelaine; PAULA JÚNIOR, Trazilbo José de; PALLINI, Angelo. **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa, MG: Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, 2006.