

ENSINO COM A PRÁTICA: ESTUDO DE TÉCNICAS FITOPATOLÓGICAS E SUA APLICAÇÃO EM PESQUISA NO CONTROLE ALTERNATIVO DE DOENÇAS DE PLANTAS

Jasmim Angélica Duarte Enciso¹, Cristiana Maia de Oliveira¹

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul – Naviraí-MS

jasmim.enciso@estudante.ifms.edu.br, cristiana.oliveira@ifms.edu.br

Resumo

O presente trabalho tem como objetivo fomentar a aprendizagem de técnicas básicas em fitopatologia, aplicando na pesquisa e na extensão. A utilização da pesquisa como ferramenta pedagógica para o ensino é de grande eficácia no processo ensino-aprendizagem contribuindo para o conhecimento do estudante, do professor e para a instituição de ensino que oferece educação de qualidade. Foi aprendido técnicas básicas em fitopatologia. Como desdobramento do ensino foi estudado o controle de patógeno pós-colheita com plantas nativas da região através do preparo de extratos. Foram utilizadas para a fabricação de extratos as plantas guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*), burrito (*Aloysia polystachya*), caraguatá (*Bromelia balansae*) e bacupari (*Garcinia gardneriana*) na concentração de 1%. Foi observado inibição micelial, 19,05%, aos 6 dias da avaliação e menor média de crescimento micelial, 56,80 mm com extrato de burrito. Relativo a extensão conseguimos contribuir na aprendizagem de técnicas básicas em fitopatologia.

Palavras-chave: Controle, Extratos Vegetais, Patógenos, Pós-Colheita, Extensão.

Introdução

A utilização de projetos nas escolas têm grande contribuição no ensino e aprendizagem dos alunos. Muitas das vezes, é empregada metodologia diferenciada e interdisciplinar gerando uma educação de qualidade. Além disso, quando bem elaborado desperta no estudante o desejo de aprender resultando em uma aprendizagem significativa (SOUZA et al., 2020).

Entre os benefícios temos a formação de profissionais com visão mais ampla, criativos, que saibam trabalhar em equipe e o desenvolvimento de senso crítico (EZENWABASILI, 2017). A pesquisa científica é uma porta dentro das instituições de ensino para promover a interdisciplinaridade e trazer o protagonismo ao estudante. A pesquisa é utilizada como instrumento pedagógico fortalecendo ensino-aprendizagem, ou seja, caminham juntos.

A agricultura é um grande setor em que ensino, pesquisa e extensão são de grande importância. Estudos acabam por fortalecer o setor, principalmente estudos relacionados a doenças em plantas, ramo esse trabalhado na fitopatologia.

A fitopatologia é a ciência que estuda doenças em plantas buscando as possíveis formas de controle e, consequentemente, auxiliando o agricultor no combate eficiente dos patógenos (MORAIS, 2018).

Devido à alta produtividade aliada ao manejo inadequado, tem-se elevado o número de doenças, principalmente pós-colheita em diversas espécies frutíferas (SERRANO; CATTANEO, 2010). Sendo assim o controle das doenças na agricultura tem se intensificado, sendo realizado basicamente através do emprego de produtos sintéticos (VENTUROSO et al., 2010).

Entretanto, a adoção contínua do controle químico pode acarretar o surgimento de patógenos resistentes aos produtos utilizados, além da contaminação de alimentos e do ambiente, intoxicação de homens e animais, ressurgimento de algumas doenças e de outras, antes consideradas secundárias, tornando-se importantes (GHINI; KIMATI, 2000).

Dessa forma, vem se buscando nos últimos anos, o desenvolvimento de métodos alternativos devido às crescentes restrições regulamentares sobre o uso de fungicidas (CAI et al., 2015).

As plantas medicinais possuem compostos secundários podendo apresentar atividade direta, por meio de extratos brutos e óleos essenciais, sobre fitopatógenos como bactérias, nematoides e fungos (SILVA et al., 2008), ou indireta, que ativam os mecanismos de defesa das plantas contra os patógenos (SCHWAN-ESTRADA & STANGARLIN, 2000).

A principal vantagem relacionada ao uso de extratos vegetais em proteção de plantas, quando comparados aos produtos sintéticos, deve-se ao fato de gerar novos compostos, os quais os patógenos não se tornaram capazes de inativar, além de serem menos tóxicos, serem degradados rapidamente pelo ambiente, possuírem um amplo modo de ação e de serem derivados de recursos renováveis (FERRAZ, 2008).

O objetivo do trabalho é a realização de práticas de laboratório voltadas para a área de Fitopatologia e sua aplicação em pesquisa voltada a estudo de controle alternativo de patógenos pós-colheita.

Metodologia

A pesquisa vem sendo realizada no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul (IFMS) Campus Naviraí, no Laboratório de Microbiologia.

As atividades estão divididas em 3 partes: voltadas ao ensino de técnicas laboratoriais importantes na fitopatologia, a aplicação dessas técnicas em ensaios experimentais, e por último a divulgação do trabalho para a comunidade externa. Em relação as atividades voltadas ao ensino, encontros semanais foram realizados visando a aprendizagem sobre técnicas fitopatológicas como uso dos equipamentos, técnicas de esterilização e desinfecção, uso da câmara de fluxo laminar, uso de microscópio e lupa, preparação de lâminas, preparo de meio de cultura, isolamento direto e indireto, caracterização morfológica de microrganismos e preservação.

Para as atividades voltadas a pesquisa, foi realizado estudos científicos com base nas técnicas citadas acima. Foram obtidos patógenos pós-colheita coletados no mercado da região de Naviraí, MS e conduzidos para o laboratório do IFMS onde foi examinado em microscópio e realizado procedimentos para o isolamento e identificação dos patógenos.

O método de isolamento dependerá do órgão da planta afetado, presença ou não de sinais do patógeno e tipo de estrutura formada (ZAMBOLIM e PEREIRA, 2012). Para o isolamento direto os frutos foram desinfetados superficialmente com lavagem em água corrente, seguido de secagem e colocados em câmara úmida para indução do aparecimento dos sinais do patógeno. A partir do aparecimento das estruturas do patógeno foi realizado o isolamento direto com a transferência dos esporos do patógeno presente nas lesões dos frutos para placas de Petri contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) e antibiótico (ZAMBOLIM et al., 2012).

As placas foram incubadas em câmara tipo BOD a 28°C e 12 horas de luz por 48 horas. Após 48 horas os isolados obtidos foram analisados em microscópio óptico para a classificação quanto às características morfológicas e identificados ao nível de gênero e preservados em tubos contendo meio BDA para futuras análises. O patógeno selecionado para estudo com extratos foi *Colletotrichum musae*.

Para os testes de controles alternativos com extratos vegetais, foram utilizadas as seguintes plantas: guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*), burrito (*Aloysia polystachya*), caraguatá (*Bromelia balansae*) e bacupari (*Garcinia Gardneriana*).

Para o preparo dos extratos, folhas sadias foram coletadas e levadas para o laboratório, higienizadas com água corrente, secas em papel filtro por 24 horas, desidratadas em estufa de circulação forçada a 40°C por 3 dias, em seguida trituradas e armazenados em sacos (NAVARRO, 2005; SANTOS, 2017) (Figura 1).



Figura 1. Plantas utilizadas no experimento. (A) Burrito; (B) Caraguatá; (C) Guabiroba; (D) Bacupari.

Os extratos obtidos foram testados *in vitro* para avaliação da eficiência no controle do patógeno *Colletotrichum musae* obtido do fruto banana nanica.

Para isso, os extratos foram misturados ao meio BDA na proporção de 225 mL do meio para 25 mL do extrato, na concentração de 1%. Os extratos foram misturados ao meio de cultura e autoclavados por 15 minutos a temperatura de 121°C e 1 atm (figura 2).



Figura 2. Obtenção dos extratos vegetais.

O meio de cultura foi vertido em placas de Petri na quantidade de 20 mL (SANTOS, 2017) e após a

solidificação discos de 1 cm obtidos de placas com crescimento do patógeno foram transferidos para o centro da placa contendo os diferentes tratamentos (Figura 3).

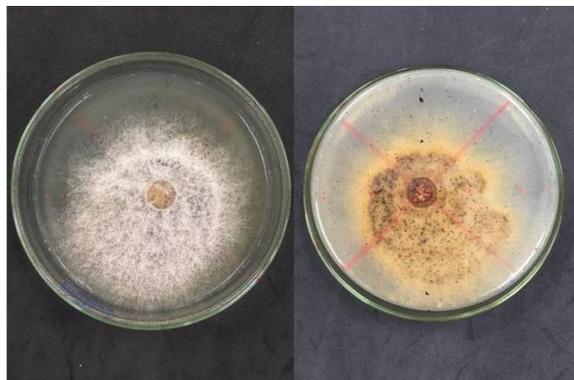


Figura 3. Tratamento com extrato de bacupari (*Garcinia gardneriana*).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos (4 extratos + controle), 1 isolado e 4 repetições de placas, totalizando 20 placas. O crescimento micelial foi avaliado aos 2, 4 e 6 dias após a transferência dos discos para os tratamentos. A medição do crescimento foi realizada com régua graduada em mm, com duas medidas do diâmetro (medição realizada em formato de cruz) (Figura 4).

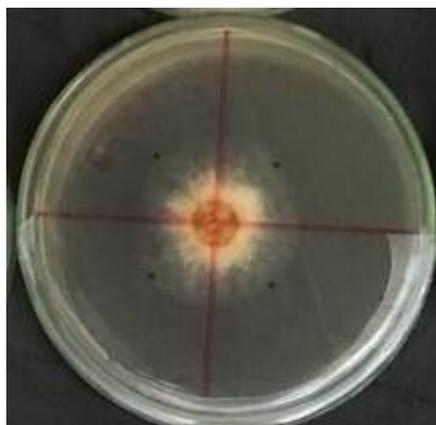


Figura 4. Medição do crescimento micelial.

Com os dados obtidos foram calculadas o diâmetro final das colônias e a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) obtida por meio da fórmula: $PIC = \frac{[(\text{diâmetro da testemunha} - \text{diâmetro do tratamento}) / \text{diâmetro da testemunha}] \times 100}{1}$, para cada extrato em relação à testemunha (EDGINGTON et al. (1971). Foi também calculado a taxa de crescimento micelial (TX) ao longo do

tempo pela fórmula: $TX = (\text{diâmetro final da colônia} / \text{número de dias de incubação}) \times 100$. O resultados foram expressos em porcentagem.

O índice de velocidade de crescimento foi avaliado pela fórmula: $IVC = \frac{\Sigma (\text{Diâmetro médio atual da colônia} - \text{Diâmetro médio da colônia do dia anterior})}{\text{Número de dias após a inoculação}}$. O resultado foi expresso em mm/dia.

Os dados obtidos foram submetidos a análise variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Relacionado a parte de extensão do projeto foi promovido curso sobre técnicas básicas em fitopatologia para os estudantes do IFMS. No final do curso questionário contendo as seguintes perguntas foi realizado: 1) Como o estudante avalia o curso?; 2) Como avalia a carga horária do curso?; 3) Se recomendaria o curso a colegas?; e 4) Deixe sua opinião do que gostaria de aprender em fitopatologia?. Curso também foi ministrado na Semana do Meio Ambiente do IFMS com a temática: “Introdução as técnicas fitopatológicas”. Ao final do curso também foi passado questionário para opinião dos estudantes. Apresentação do trabalho para estudantes do terceiro ano do ensino médio do colégio de Caarapó também foi realizado.

Resultados e Discussão

A primeira etapa aprendizagem sobre técnicas fitopatológicas foi compreendido quanto ao uso de equipamentos como autoclave, uso de fluxo laminar, BOD e estufa. Técnicas em fitopatologia como a produção de meios de cultura tipo batata-dextrose-ágar (BDA), isolamento direto e indireto de organismos foram executadas. A aprendizagem das técnicas de isolamento foi realizada trabalhando com doenças pós-colheita (Figura 5).

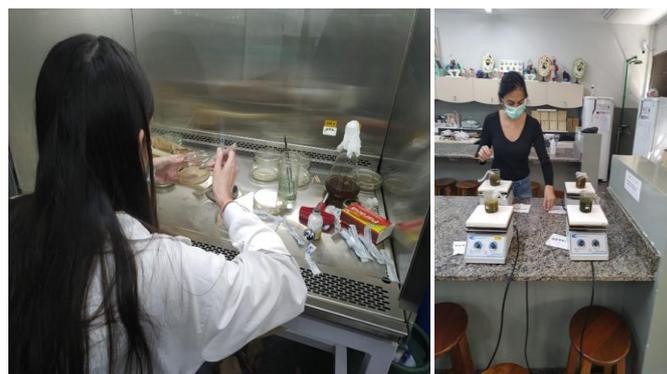


Figura 5. Atividades práticas para aprendizagem das técnicas fitopatológicas.

Em relação à pesquisa com extratos de plantas nativas (burrito, caraguatá, bacupari e guabiroba) no controle *in vitro* do fungo *Colletotrichum musae* foi visualizado maior porcentagem de inibição do crescimento, 19,09%, no tratamento com burrito aos 6 dias de avaliação (Tabela 1).

Tabela 1. Efeito de extratos vegetais a 1% sobre a porcentagem de inibição do crescimento (P.I.C.) de *Colletotrichum musae*, após 6 dias.

Extratos Vegetais	PIC (%)
Testemunha	0,00
Burrito	19,05
Caraguatá	4,05
Bacupari	0,00
Guabiroba	0,00

Pode ser observado que o extrato de folhas de burrito promoveu o menor crescimento micelial aos 4 e 6 dias quando comparado ao controle. Assim como exibiu menor taxa de crescimento (tabela 2).

Tabela 2. Efeito de extratos sob o crescimento micelial e taxa de crescimento de *Colletotrichum musae* avaliados aos 2, 4 e 6 dias.

Tratamentos	Crescimento Micelial (mm)			
	2 dias	4 dias	6 dias	Média
Controle	36,93 a	73,19 a	87,38 a	65,83a
Burrito	36,28 a	63,39 b	70,74 b	56,80b
Caraguatá	37,89 a	70,01 ab	83,84 a	63,91a
Bacupari	35,32 a	72,86 a	88,30 a	65,50a
Guabiroba	40,14 a	76,76 a	90,00 a	65,49a

Tratamentos	Taxa de Crescimento (%)			
	2 dias	4 dias	6 dias	Média
Controle	18,43 ab	18,30 a	14,56 a	17,10ab
Burrito	18,24 ab	15,85 b	11,79 b	15,29c
Caraguatá	18,94 ab	17,50 ab	13,97 a	16,80b
Bacupari	17,66 b	18,22 a	14,72 a	16,86ab
Guabiroba	20,69 a	19,19 a	15,00 a	18,29a

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Houve tendência de decréscimo na velocidade de crescimento com extrato de burrito apesar de não ter havido diferença estatística (figura 6).

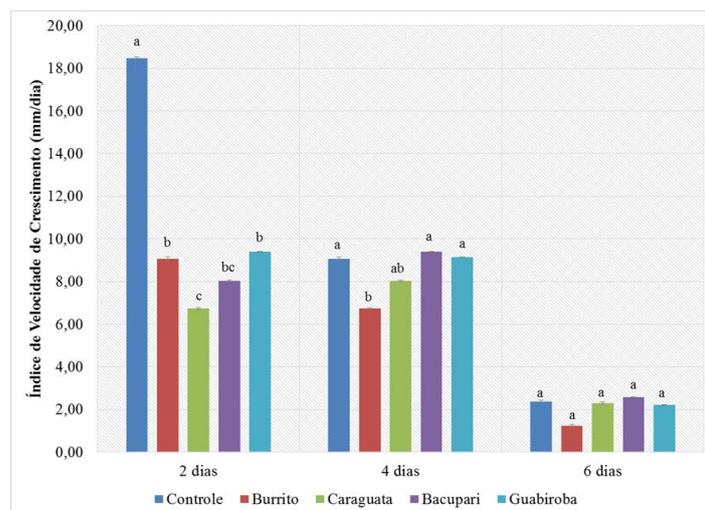


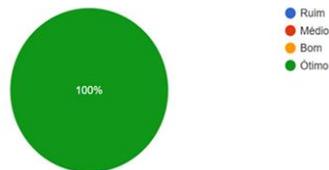
Figura 6. Índice de velocidade de crescimento (mm/dia) para o fungo *Colletotrichum musae*, avaliado aos 2, 4 e 6 dias após a aplicação dos tratamentos com extrato.

Inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* também foi obtido por Santana et al., (2010) no valor de 15,1% utilizando diferentes concentrações do extrato de cravo-da-índia. Novos estudos com concentrações dos extratos são necessários para melhor eficiência no controle do patógeno.

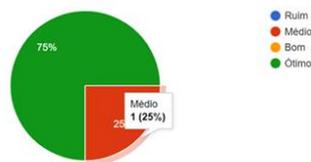
Em relação a parte de extensão foi ministrado curso sobre técnicas básicas em fitopatologia e os estudantes participantes avaliaram o curso (figura 7).



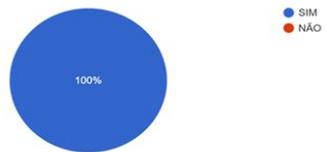
Como você avalia o curso?
4 respostas



Como você avalia a carga horária do curso (2 horas semanais no total de 4 encontros)?
4 respostas



Você recomendaria o curso a colegas?
4 respostas



Deixe sua sugestão do que gostaria de aprender sobre fitopatologia:
4 respostas

- Inoculação de Patógenos
- Ver mais lâminas no microscópio
- Sobre os Patógenos causadores de doenças em culturas
- A identificar mais as doenças nas plantas

Figura 7. Curso ministrado no IFMS sobre Técnicas Básicas em Fitopatologia e Resposta ao questionário no final do curso.

Foi observado que 100% dos estudantes avaliaram o curso como bom e recomendariam a outros colegas, 75% acharam bom a carga horária semanal de 2 horas ao longo de 4 semanas. Sugestões sobre o que gostariam de aprender a mais em fitopatologia também foram escritas.

Sobre a semana do meio ambiente com o curso ministrado sobre “Introdução sobre as técnicas fitopatológicas” como resposta a avaliação do curso obteve-se os seguintes resultados: 7 estudantes avaliaram como ótimo, gostariam de aprender mais sobre técnicas fitopatológicas e recomendariam o curso. Sugestões como que gostariam de aprender mais sobre vírus e bactérias e aprendizagem mais profunda do tema foram deixadas (figuras 8 e 9).



Figura 8. Ensino de técnicas fitopatológicas na Semana do Meio Ambiente no laboratório de Microbiologia.

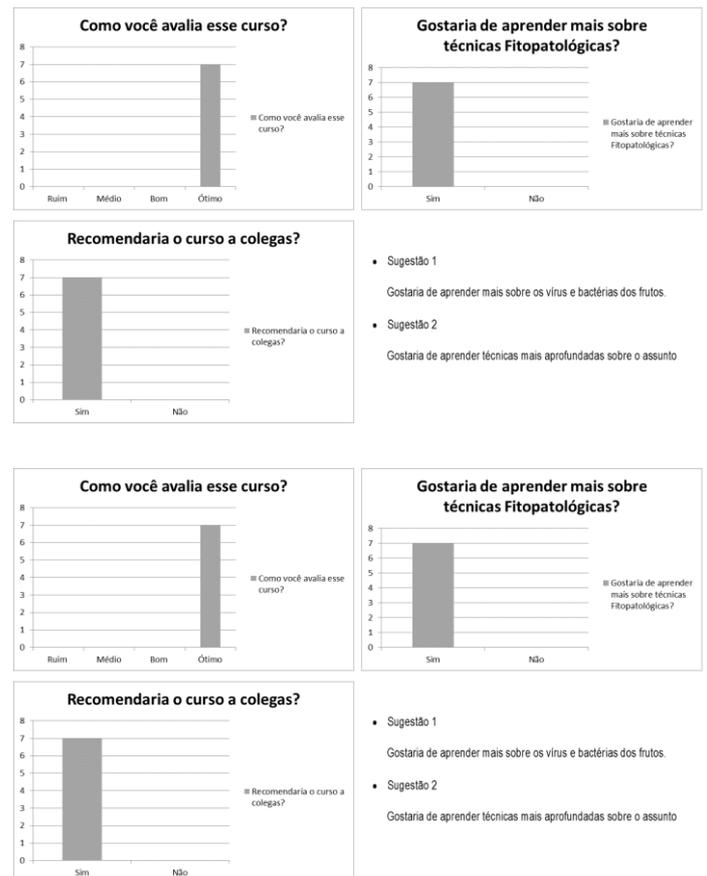


Figura 9. Questionário aplicado a estudantes que participaram do Curso sobre introdução as técnicas fitopatológicas na Semana do Meio Ambiente do IFMS.

Alunos do terceiro ano do ensino médio advindos da cidade Caarapó-MS foram recepcionados no laboratório de fitossanidade, no qual foi apresentado a eles o projeto, além de algumas práticas laboratoriais, como o preparo de lâminas para a observação de patógenos pós-colheita.



Figura 10. Apresentação do projeto aos alunos de Caarapó-MS.

Considerações Finais

A associação teoria e prática é de grande importância para o ensino e para aprendizagem de conteúdo.

O ensino de técnicas fitopatológicas em instituições de ensino voltadas para a área da agricultura é de grande importância para conhecer as doenças em plantas, onde a partir de conhecimentos laboratoriais adquiridos, poderá utilizar dentro de sua trajetória acadêmica e profissional.

A aprendizagem das técnicas fitopatológicas aliada a pesquisa permitiu conhecer mais sobre o uso de extratos como controle alternativo. Sendo o extrato de burrito que promoveu o maior controle pós-colheita de *Colletotrichum musae*.

Agradecimentos

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul pela oportunidade.

Referências

CAI, J.H.; CHEN, J.; LU, G.B.; ZHAO, M.; TIAN, S.P.; QIN, G.Z. Control of brown rot on jujube and peach fruits by trisodium phosphate. *Postharvest Biology and Technology*, v.99, p.93-98, 2015.

EDGINGTON, L. V.; KNEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. *Phytopathology*, v. 61, n. 1, p. 42-44, 1971.

EZENWABASIL, M. Por que incentivar os alunos a fazerem pesquisa científica?. *Ensino edição 222*. Disponível em: https://revistaensinosuperior.com.br/iniciacao_cientifica/. Acesso em 27 jan. 202

FERRAZ, S.; LOPES, E. A.; AMORA, D. X. Controle de fitonematoides com o uso de extratos e óleos essenciais de plantas. In: POLTRONIERI, L. S.; ISHIDA, A. K. N. (Ed).

Métodos alternativos de controle de insetos-praga, doenças e plantas daninhas. *Panorama atual e perspectivas na agricultura*. Belém: EMBRAPA Amazônia Oriental, 2008. 308. p.

GHINI, R.; KIMATI, H. Resistência de fungos a fungicidas. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2000.

JAMAL, C. M.; SILVEIRA, D.; RONCHI, R.; ANDRADE, M. A.; BATITUCCI, M. C.; BRASILEIRO, B. G.; SILVA, M. B. O uso de extratos vegetais no controle alternativo da podridão pós-colheita da banana. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO CERRADO, IX, 2008, ParlaMundi. Anais... Brasília, DF: EMBRAPA Cerrados, 2008. p. 1-9.

NAVARRO, D. de. Estudo Químico, Biológico e Farmacológico das espécies *Allamanda blanchetti* e *Allamanda schottii* na obtenção de moléculas bioativas de potencial terapêutico. 2005. 37f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

SANTANA, K. F. A.; DEZORDI, C.; COELHO NETO, R. A.; ASSIS, L. A. G. Efeito fungitóxico de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 43. Cuiabá. Resumos... Cuiabá: SBF, 2010. p. 402.

SANTOS, M.F. Efeito de extratos vegetais sobre *Colletotrichum* spp. Agente causal da antracnose pós-colheita em pimenta de-cheiro (*Capsicum chinense* Jacq.). 2017. TCC de Graduação (Agronomia) - Universidade Federal do Amazonas. 29 f.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. *Revista Floresta*, v.30, p.129-37, 2000.

SERRANO, L. A.; CATTANEO, L. F. O cultivo do mamoeiro no Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.32, n.3, p.657-959, 2010.

SILVA, M.B.; NICOLI, A. COSTA, A.S.V.; BRASILEIRO, B.G.; JAMAL, C.M., SILVA, C. A.; PAULA JÚNIOR, T. J.; TEIXEIRA, H. Ação antimicrobiana de extratos de plantas medicinais sobre espécies fitopatogênicas de fungos do gênero *Colletotrichum*. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, Botucatu, v.10, n.3, p.57- 60, 2008.

SILVA, R. A.; SOUZA, T. O.; DIAS, L. P.; ANDRADE, T. J. A. S. Ação do extrato metanólico da *Moringa oleifera* sobre o crescimento micelial de fitopatógenos, IV, 2009, Belém. Anais... Belém, PA: 2009. p. 1- 4.

SOUZA, J.C.S.; SANTOS, D.O.; SANTOS, J.B. Os projetos pedagógicos como recurso de ensino. *Revista educação pública*, v. 20, n. 40, p.1-8, 2020.

VENTUROSO, L.R.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L.; PONTIM, B.C.A.; CONUS, L.A. Influência de diferentes metodologias de esterilização sobre a atividade antifúngica de extratos aquosos de plantas medicinais. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Botucatu, v.12, n.4, p.499-505, 2010.