

Avaliação *in vitro* de extratos vegetais para o controle de fungos patogênicos de flores

In vitro evaluation of plant extracts to control pathogenic fungi of flowers

CAMATTI-SARTORI, Valdirene ¹ ; MAGRINI, Flaviane Eva ² ; CRIPPA, Liziane Bertotti ³ ; MARCHETT, Cassiano ⁴; VENTURIN, Leandro ⁵; SILVA-RIBEIRO, Rute Terezinha ⁶

1 Universidade de Caxias do Sul – Instituto de Biotecnologia / Laboratório de Controle Biológico de Doenças de Plantas, Caxias do Sul/RS - Brasil, vcsartor@ucs.br; 2 Universidade de Caxias do Sul – Instituto de Biotecnologia / Laboratório de Controle Biológico de Doenças de Plantas, Caxias do Sul/RS - Brasil, flavimagrini@hotmail.com; 3 Universidade de Caxias do Sul – Instituto de Biotecnologia / Laboratório de Controle Biológico de Doenças de Plantas, Caxias do Sul/RS - Brasil, lizicrippa@yahoo.com.br; 4 Universidade de Caxias do Sul – Instituto de Biotecnologia / Laboratório de Controle Biológico de Doenças de Plantas, Caxias do Sul/RS - Brasil, cassianomarchett@gmail.com; 5 Centro Ecológico Serra – Ipê, Ipê/RS - Brasil, stventur@yahoo.com.br; 6 Universidade de Caxias do Sul – Instituto de Biotecnologia / Laboratório de Controle Biológico de Doenças de Plantas, Caxias do Sul/RS - Brasil, rtsribei@ucs.br

RESUMO: O sistema convencional do cultivo de flores vem causando diversos problemas, como intoxicações, contaminação dos solos, das águas e alimentos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos em flores. Os fitopatógenos *Fusarium* sp. e *Botrytis* sp. foram isolados de flores de *Gerbera* sp. e *Rosa* sp. com sintomas de doença. Foram avaliados os extratos acéticos e etanólicos de alecrim, cavalinha, gengibre, alho, camomila, louro, manjeriço, menta e eucalipto. Observou-se que o extrato etanólico de camomila inibiu em 52% o crescimento micelial de *Fusarium* sp. O fungo *Botrytis* sp. foi inibido com os extratos acéticos de alecrim, eucalipto e menta. O potencial antifúngico, parcial ou total, dos extratos vegetais contra os fitopatógenos pode ser uma alternativa viável para o controle de doenças em flores.

PALAVRAS-CHAVE: controle alternativo, fitopatógenos, extratos vegetais.

ABSTRACT: The conventional system of flower crop is causing diverse problems, as poisoning, soil, water and food contamination. The aim of this work was evaluate the effect of plant extracts on development of plant pathogens in flowers. The plant pathogens *Fusarium* sp. and *Botrytis* sp. were isolated from flowers of *Gerbera* sp. and *Rosa* sp. showing disease symptoms. Acetic and ethanolic extracts of rosemary, equisetum, ginger, garlic, chamomile, laurel, basil, peppermint and eucalyptus were evaluated. It was observed that the etahnolic extract of chamomile inhibited in 52% the *Fusarium* sp. mycelial growth. The fungus *Botrytis* sp. was inhibited with the acetic extracts of rosemary, eucalyptus and peppermint. The antifungal potential, partial or total, of vegetable extracts against plant pathogens can be a viable alternative for the control of diseases on flowers.

KEY WORDS: alternative control, phytopathogens, plant extract.

Introdução

A floricultura é uma atividade de alta rentabilidade por área, contribuindo para a diminuição do êxodo rural e aproveitamento dos minifúndios, com elevado emprego de mão-de-obra familiar (SMORIGO, 1999).

O Brasil possui potencial para a produção de flores e folhagens, em decorrência da grande variabilidade do clima, do imenso espaço territorial, da disponibilidade de água e umidade relativa do ar apropriada. No Brasil, a exploração econômica de flores é recente; porém, o setor tem apresentado aumento da movimentação financeira (SMORIGO, 2001). A produção de flores no Rio Grande do Sul concentra-se na região no Vale do Rio Caí. A maioria dos produtores emprega o sistema convencional de produção, com o uso de agroquímicos de síntese, causando intoxicações, erosão e contaminação dos solos, das águas e dos alimentos.

Produtos alternativos como extratos botânicos têm sido investigados, que por serem de origem natural podem ser menos tóxicos ao homem e ao meio ambiente (STANGARLIN et al., 1999). No metabolismo primário e secundário das plantas, vários compostos são biologicamente ativos, isto é, têm ação fungicida, inseticida, citotóxica, antiviral, tranqüilizante, analgésica, dentre outras (PLETSCH, 1998).

Esses produtos têm sido empregados de forma empírica por muitos agricultores familiares, que utilizam este sistema de cultivo com maior aproveitamento dos recursos naturais à sua disposição e de forma eficiente na inibição do desenvolvimento de vários fungos fitopatogênicos, sem provocar efeitos indesejáveis ao ambiente (BETTIOL, 1991). Este trabalho teve como objetivo avaliar *in vitro*, a atividade fungitóxica de extratos vegetais contra fitopatógenos isolados de flores no sul do Brasil.

Materiais e métodos

O trabalho foi conduzido no laboratório de

Controle Biológico de Doenças de Plantas da Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, RS. Foram utilizados os fungos fitopatogênicos *Fusarium* sp. e *Botrytis* sp. isolados a partir dos sintomas em gérberas (*Gerbera* sp.) e rosas (*Rosa* sp.) cultivadas no Núcleo Universitário de São Sebastião do Caí/RS. Os isolados foram mantidos em meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA).

Extratos vegetais foram obtidos de folhas e ramos de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), cavalinha (*Equisetum arvense*), camomila (*Matricaria chamomilla*), louro (*Laurus nobilis*), manjerição (*Ocimum basilicum*), menta (*Mentha piperita*), eucalipto (*Eucalyptus citriodora*), bulbo de alho (*Allium sativum*) e rizoma de gengibre (*Zingiber officinale*). As amostras foram coletadas no período da manhã entre os meses de março a setembro de 2007 em áreas de cultivo do Sul do Brasil. No processo, 60 g da droga vegetal foi triturada em 200 mL de solvente (ácido acético ou etanol 40%), sendo os extratos resultantes armazenados no escuro durante 15 dias. Os preparados foram filtrados em papel filtro e em membrana de porosidade 0,2 µm e, então diluídos em água destilada e esterilizada nas concentrações de 25 e 50%, constituindo o concentrado vegetal.

Alíquotas de 100 µL de cada concentrado foram espalhadas sobre a superfície do meio BDA em placa de Petri, e depositados, equidistantemente, quatro discos de 2 mm de diâmetro do meio de cultura BDA, com cada um dos fungos fitopatogênicos selecionados. Placas com BDA mais o solvente (ácido acético ou etanol 40%) nas concentrações descritas acima serviram como testemunhas. Foram feitas quatro replicatas para cada fungo, extrato botânico e concentração. As placas foram mantidas em incubadora à 28°C e fotoperíodo de 12h por até 96h.

A avaliação consistiu da medida do diâmetro da colônia após 48h da aplicação dos extratos nas

respectivas placas com os isolados fúngicos. A partir dos resultados obtidos determinou-se a percentagem de inibição do crescimento micelial para cada extrato testado, em relação ao tratamento testemunha. Os dados foram submetidos à análise de variância comparando-se as médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, por meio do software SPSS 16.0.

Resultados e discussão

Observou-se que o extrato acético de alecrim na concentração de 25%, proporcionou inibição acima de 40% para o fitopatógeno *Fusarium* sp, seguido pelos extratos de manjerição e menta, a 50% cada, que proporcionaram inibição acima de 40% para o mesmo fitopatógeno (Tabela 1). O

extrato etanólico de camomila demonstrou maior percentagem de inibição (50 e 40%) para o extrato na concentração de 25 e 50% respectivamente, diferindo dos demais extratos.

Rozwalka et al. (2008) verificaram o efeito inibitório dos extratos de alecrim e gengibre sobre o crescimento micelial de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* indicando potencial de controle da antracnose em frutos de goiabeira. Em trabalho realizado por Itako et al. (2009), verificaram redução de 49,06% do crescimento micelial de *Cladosporium fulvum* em relação à testemunha, com extrato de alecrim na concentração de 40%. O efeito fungicida contra *Fusarium verticillioides* foi observado com o extrato acetato de etila de *Baccharis glutinosa* na

Tabela 1: Inibição do crescimento micelial de *Fusarium* sp. expressa em percentagem da testemunha, com extratos acético e etanólico de plantas medicinais e aromáticas nas concentrações de 25 e 50% no período de 48h.

Espécie	Extrato acético		Extrato etanólico	
	25%	50%	25%	50%
Alecrim	48,08 a* A**	14,26 cd CD	21,86 b D	4,98 d C
Cavalinha	12,48 d AB	10,76 cd AB	8,46 d B	15,38 c A
Gengibre	10,83 d B	25,73 b A	9,57 d B	27,77 b A
Alho	0 e B	7,95 d B	0 e B	22,43 bc A
Camomila	10,22 d C	10,89 cd C	52,34 a A	40,26 a B
Louro	7,47 d B	26,61 b A	15,58 c AB	16,29 c AB
Manjerição	30,03 b B	42,17 a A	1,84 e C	0 d D
Menta	26,41 b B	45,49 a A	0 e D	21,06 bc C
Eucalipto	23,63 c A	24,06 bc A	0 e B	2,74 d B

*Médias seguidas por letras minúsculas distintas nas colunas são diferentes ao nível de $P \leq 0,05$ pelo teste de Tukey. **Valores seguidos letras maiúsculas distintas nas linhas são diferentes ao nível de $P \leq 0,05$ pelo teste de Tukey.

concentração de 0,8mg/mL, apresentando menor crescimento radial do fungo em 336h (ROSAS-BURGOS et al., 2009).

O extrato acético de alecrim nas concentrações de 25 e 50% de eucalipto a 50% inibiu em 90% o crescimento do fungo *Botrytis* sp (Tabela 2). Resultado semelhante foi obtido com o extrato acético de menta à 50% tendo inibição de 83,59%, em relação a testemunha. Os extratos acéticos de gengibre, cavalinha e menta apresentaram inibição acima de 50% em ambas as concentrações. O extrato etanólico de alecrim nas concentrações de 25 e 50% apresentou inibição acima de 68%, enquanto que os extratos de cavalinha, louro, menta e eucalipto a 50% de concentração determinaram porcentagens de inibição acima de

50%. Zeni et al. (2004) também observaram que o extrato de *E. citriodora* inibiu o crescimento de *B. cinerea*.

O extrato de alho teve o menor efeito inibitório com redução de apenas 17% para o extrato acético (25 e 50%), e de 11% para o etanólico sobre o crescimento de *Botrytis*. Por outro lado, o extrato de alho demonstrou pequena ou nenhuma inibição para ambas as concentrações quando aplicado em placas com *Fusarium*. Por outro lado, Lozano et al. (2000) observaram resultados promissores no controle de *Botrytis* sp. com extratos botânicos de alho (*Allium sativum*), quinaquina (*Coutarea hexandra*) e lacre (*Vismia guianensis*). Também Ribeiro & Bedendo (1999), verificaram o efeito positivo do extrato de alho

Tabela 2: Inibição do crescimento micelial de *Botrytis* sp. expressa em porcentagem da testemunha, com extratos acético e etanólico de plantas medicinais e aromáticas nas concentrações de 25 e 50% no período de 48h.

Espécie	Extrato acético		Extrato etanólico	
	25%	50%	25%	50%
Alecrim	90,67 a * A**	90,67 a A	70,29 a B	68,86 a B
Cavalinha	50,97 bcd AB	59,85 c A	42,38 c B	59,92 b A
Gengibre	61,49 bc A	76,71 b A	42,17 c B	40,14 d B
Alho	22,75 e A	17,59 e AB	11,77 f B	13,23 f B
Camomila	44,56 d A	38,81 d AB	26,15 e C	36,37 d B
Louro	40,02 d B	33,51 d B	33,06 d B	51,04 c A
Manjeriçã	37,92 d B	64,63 c A	34,79 d B	26,41 e B
Menta	65,89 b B	83,59 ab A	48,82 b D	58,47 b C
Eucalipto	46,89 cd C	90,50 a A	44,46 bc C	61,29 b B

*Médias seguidas por letras minúsculas distintas nas colunas são diferentes ao nível de $P \leq 0,05$ pelo teste de Tukey. **Valores seguidos letras maiúsculas distintas nas linhas são diferentes ao nível de $P \leq 0,05$ pelo teste de Tukey.

sobre o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* "in vitro", o seu efeito inibitório tem sido demonstrado sobre os fungos *Alternaria* sp. e *Curvularia* sp. (BARROS et al., 1995).

O efeito promotor de crescimento de colônias de *Fusarium* sp. foi observado com os extratos etanólicos de menta e alho na concentração de 25%, manjeriço a 25 e 50% e extrato acético de alho a 25%.

O potencial antimicrobiano de plantas aromáticas têm sido relatado por vários autores (BASTOS, 1997; FIORI et al., 2000; STADNIK & TALAMINI, 2004; BALBI-PEÑA et al., 2006). Trabalhos desenvolvidos com extrato bruto ou óleo essencial, obtido a partir de plantas medicinais têm indicado o potencial dessas no controle de fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas, indicando a presença de compostos com características de elicitores (SCHWAN-ESTRADA, 2002). Segundo Lorenzi & Matos (2002), Ginkgo (*Ginkgo biloba* L.) e hortelã pimenta (*Mentha x piperita* L.) possuem propriedades antifúngicas e antibacterianas, e a atividade biológica de espécies de *Piper* é muito diversificada e também muito utilizada na medicina popular para tratamento de inúmeras doenças.

Os extratos vegetais são importante fonte de substâncias biologicamente ativas e, portanto, são potenciais para o desenvolvimento de preparados fitossanitários. Esses extratos podem ser mais uma alternativa importante na produção agrícola onde não é permitido o uso de fungicidas sintéticos para a proteção de plantas contra fungos fitopatogênicos.

Conclusão

A maioria dos extratos botânicos acético e etanólico avaliados apresentaram algum tipo de inibição contra os fungos fitopatogênicos testados. Porém, a maior porcentagem de inibição do

crescimento micelial foi evidenciada pelo extrato acético de alecrim para ambos os fungos, sugerindo a existência de compostos biologicamente ativos, com efeito fungitóxico. Isto indica uma aplicação potencial no controle alternativo nas doenças fúngicas de flores.

Agradecimentos

Este trabalho teve apoio financeiro da Fundação de Amparo a Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS) - Procoreds II, Universidade de Caxias do Sul e do Centro Ecológico Serra de Ipê.

Referências bibliográficas

- BALBI-PEÑA, M.I. et al. Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e curcumina- II. Avaliação *in vivo*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n.4, p. 401-404, 2006.
- BARROS, S.T. et al. Efeito de extrato de alho (*Allium sativum*) sobre o crescimento micelial de *Curvularia* spp e *Alternaria* spp. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 2, n. 2, p. 168-170, 1995.
- BASTOS, C.N. 1997. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipellis perniciosa* e outros fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, p.441-443, 1997.
- BETTIOL, W. 1991. Controle biológico de doenças do filoplano. In: BETTIOL, W. (Org.). **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA. 1991. 338p.
- FIORI, A.C.G. et al. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Dilymella bryoniae*. **Journal Phytopathology**, v. 148, n 7-8. p. 483-487, 2000.
- ITAKO, A.T. et al. Controle de *Cladosporium fulvum* em tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Arq Inst Biol**, São Paulo, v. 76, n. 1, p. 75-83, 2009.
- LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2002, 512p.
- LOZANO, C. et al. Evaluacion del efecto de hidrolatos de ajo (*Allium sativum*) y cebolla junca (*Allium fistulosum*) en el desarrollo de los

- hongos fitopatogenos *Botrytis alli* y *Sclerotium cepivorum*. **Fitopatologia Colombiana**, Cali, v. 24, n. p. 29-32, 2000.
- PLETSCH, M. Compostos naturais biologicamente ativos. A aplicação da biotecnologia à produção de compostos naturais biologicamente ativos. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, n.4, p.12-15. 1998.
- RIBEIRO, L.F.; BEDENDO, I.P. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* – agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 4, p.1267-1271, 1999.
- ROSAS-BURGOS, C.E. et al. Antifungal activity in vitro of *Baccharis glutinosa* and *Ambrosia confertiflora* extracts on *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* and *Fusarium verticillioides*. **World Journal Microbiology Biotechnology**, v.25, p. 2257-2261, 2009.
- ROZWALKA, L.C. et al. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 301-307, 2008.
- SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Potencial de extratos e óleos essenciais de vegetais como indutores de resistência plantas medicinais. In: Reunião Brasileira sobre indução de resistência em plantas contra fitopatógenos, 1, 2002, São Pedro, SP. **Anais...** São Pedro: ESALQ/USP, 2002. P. 27-28.
- SMORIGO, J.N. Os sistemas de distribuição de flores e plantas ornamentais: uma aplicação da economia dos custos de transição. In: II Workshop Brasileiro de Gestão de Sistemas Agroalimentares, 1999, Ribeirão Preto, SP. **Anais...** Ribeirão Preto: PENSA/FEA/USP, 1999. P.283-293.
- SMORIGO, J.N.; SAWAYA, M.J. Análise da eficiência dos sistemas de distribuição de flores e plantas ornamentais no Estado de São Paulo. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, Brasília, v. 39, p.35-52, 2001.
- STADNIK, M.J.; TALAMINI, V. Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas. In: STADNIK, M.J.; TALAMINI, V. **Manejo Ecológico de Doenças de Plantas**. Florianópolis: CCA/UFSC, 2004. 293p.
- STANGARLIN, J.R. et al. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 11, p. 16-21, 1999.
- ZENI, T.L. et al. Uso de extrato aquoso e óleo de eucalipto no controle de fungos fitopatogênicos *in vitro*. In: III Evento de iniciação científica da Embrapa Florestas, 2004, Colombo, PR, **Anais...** Colombo: Embrapa Florestas. 2004.