

**ARTIGO**

**USO DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE *IN VITRO* DE *Colletotrichum* sp.  
ASSOCIADO À ANTRACNOSE DA MANDIOCA**

João Auguaberto de Lima Júnior<sup>1</sup>, Juliana Barros Ramos<sup>2</sup>, Carolina Yamamoto Santos Martins<sup>3</sup>,  
Ilari Soraia Brandão do Santos Carmo<sup>4</sup>, Carlos Augusto Dórea Bragança<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Mestrando do Programa de Ciências Agrárias - UFRB. Bolsista CAPES. e-mail: joao-adelima@hotmail.com

<sup>2</sup> Mestranda do Programa de Ciências Agrárias - UFRB. Bolsista CAPES. e-mail: jb.ramos@live.com; <sup>3</sup> Técnica administrativa – UFRB/ e-mail: carolinayamamoto@ufrb.edu.br; <sup>4</sup> Discente do curso Agronomia - UFBR. Bolsista PPQ/UFRB. e-mail: ilarisoroia@hotmail.com; <sup>5</sup> Professor de fitopatologia - UFRB. e-mail: carlosadbraganca@gmail.com.

**RESUMO**

No Brasil, a mandioca é cultivada em quase todas as regiões, sendo utilizada principalmente sob a forma de farinha e outros produtos industrializados. A agricultura familiar tem grande participação na produção, respondendo por mais de 85%. Dentre as várias doenças fúngicas que podem afetar a cultura, destaca-se a antracnose causada por *Colletotrichum* sp. que em condições favoráveis pode ocasionar grandes perdas no cultivo. A utilização de extratos vegetais pode ser uma alternativa de baixo custo, sem danos a saúde humana e ao meio ambiente para controle dessa doença. O objetivo deste projeto foi avaliar por meio de ensaios *in vitro*, a utilização de extratos vegetais de partes frescas e secas de mamona (*Ricinus communis*) e aroeira (*Schinus terebinthifolius*) no controle do fungo *Colletotrichum* sp. agente causal da antracnose da mandioca. Para tanto foi realizado teste de inibição do crescimento micelial. O extrato de aroeira seco, apresentou 70,07% de inibição no crescimento micelial no terceiro dia, 65,90% com cinco dias e 65,24% aos 7 dias. Obtendo os melhores resultados entre os extratos vegetais testados. Extrato de aroeira apresenta maior efeito fungistático, quando produzido com material vegetal seco. O extrato de aroeira seco a 25%, inibi o crescimento micelial de *Colletotrichum* sp.

**Palavras chave:** *Colletotrichum* sp; Mamona; Aroeira.

**INTRODUÇÃO**

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma das principais fontes de carboidratos para milhões de habitantes em diversos países do mundo, principalmente nos países em desenvolvimento e nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, sendo o seu produto mais conhecido, suas raízes, que apresentam armazenamento de alta produtividade. Suas folhas também apresentam elevado teor de proteína, podendo ser utilizadas como alimento (ANDRÉ & SANTOS, 2012). No Brasil, a mandioca é cultivada em quase todas as regiões, sendo utilizada principalmente sob a forma de farinha e outros produtos industrializados (SILVA et al., 2009). Todo ano são produzidos no país cerca de 25 milhões de toneladas de raízes. A agricultura familiar responde por mais de 85% dessa produção (FILHO & VIEIRA, 2011).

**ARTIGO**

Dentre as várias doenças fúngicas que podem afetar a produtividade da cultura, estão às doenças radiculares causadas por diferentes espécies dos gêneros *Phytophthora*, *Sclerotium*, *Lasiodiplodia*, e *Fusarium* (CEBALLOS et al., 2004; MACHADO et al., 2014), e as doenças de parte aérea: ferrugem causada por *Uromyces* spp., manchas foliares causadas por *Mycosphaerella* spp. (WYDRA & VERDIER, 2002) e a antracnose causada por *Colletotrichum* sp. (MORAIS et al., 2013).

A antracnose da mandioca ocorre em todas as regiões produtoras do Brasil, no entanto com maior intensidade no Sudeste e no Nordeste, quando as condições climáticas são propícias ao fungo, as perdas da cultura são bem mais significativas (SILVA, 2011), fazendo assim que a doença se torne um obstáculo na produção de mandioca (FOKUNANG et. al., 2000).

Ao longo das últimas décadas, as tentativas de controlar doenças de plantas são realizadas por meio da utilização de fungicidas sintéticos, na tentativa de erradicação ou prevenção. Seu uso contínuo interrompe o controle biológico natural, leva ao desenvolvimento de resistência a vários tipos de fungicidas e ocasiona problemas ambientais (SOYLU et al., 2010). Essa restrição ao uso de fungicidas devido a efeitos residuais e resistência pelo patógeno, têm levado a procura de métodos alternativos de controle, tais como, o uso de extratos vegetais e controle biológico (BENATO et al., 2002).

Na literatura existem vários estudos que obtiveram resultados positivos com utilização dos extratos vegetais, dentre eles estão àqueles realizados por RODRIGUES et al. (2007), que avaliou o controle de *S. sclerotiorum* em alface utilizando EBA (extrato bruto aquoso) de gengibre; KUHN et al. (2006), que estudou o efeito de *Curcuma longa* sobre *Xanthomonas* sp. em mandioca, entre outros. O efeito do óleo de *Piper aduncum* foi avaliado sobre o crescimento micelial de diferentes fungos fitopatogênicos. Nas concentrações de 50 e 100 µg/mL do óleo, causou 100% de inibição no crescimento e na germinação, respectivamente, de basidiósporos de *C. pernicioso* e também foi igualmente efetivo na inibição de *Phytophthora palmivora* e *Colletotrichum gloesporioides* (BASTOS, 1997).

Considerando que as pesquisas de controle de doenças fúngicas por meio do emprego de extratos vegetais tem crescido consideravelmente nos últimos anos, e que a exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes em diferentes extratos de plantas pode constituir uma forma efetiva de controle de doenças em plantas cultivadas, o objetivo deste projeto foi avaliar por

## ARTIGO

meio de ensaios *in vitro* para a detecção de efeitos fungistáticos, a utilização de extratos vegetais de partes frescas e secas de mamona (*Ricinus communis*) e aroeira (*Schinus terebinthifolius*) no controle do fungo *Colletotrichum* sp. agente causal da antracnose da mandioca.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido na Clínica Fitopatológica da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Na primeira etapa do experimento, foram realizados testes *in vitro* com dois extratos vegetais na forma fresca e seca, e um fungicida, conforme a Tabela 1.

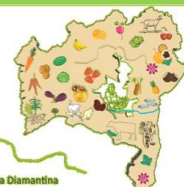
**Tabela 1** – Espécies vegetais e partes da planta que foram utilizadas no preparo dos extratos vegetais para o controle de *Colletotrichum* sp.

<b>Espécies</b>	<b>Nome Popular</b>	<b>Família Botânica</b>	<b>Parte da Planta</b>
<i>Ricinus communis</i>	Mamona	Euforbiáceas	Folhas e Frutos
<i>Schinus terebinthifolius</i>	Aroeira	Anacardiácea	Folhas e Frutos
<b>Fungicida</b>			
Tebuconazol			

## Isolamento e cultivo do patógeno

O fungo *Colletotrichum* sp. foi obtido de isolamento indireto a partir do material vegetal de mandioca (folhas) com sintomas específicos.

Com o auxílio de um bisturi devidamente esterilizado, foram realizados cortes na folha de mandioca entre o tecido infectado e o sadio, realizando um corte retangular dentro da câmara de fluxo laminar. Com o auxílio de uma pinça esterilizada foi realizado o procedimento de desinfestação superficial da amostra, os fragmentos da amostra foram transferidos para uma placa de petri contendo álcool 70%, sendo mexido e deixado por 1 minuto, em seguida transferiu-se as amostras para 2º placa de petri que continha hipoclorito a 2% também por 1 minuto, em seguida as amostras passaram por três lavagens em água destilada. Os fragmentos foram enxugados em papel toalha, após a secagem



## ARTIGO

foram transferidos para uma placa de petri contendo meio de cultura BDA (Batata, Agar e Dextrose) + antibiótico de forma centralizada, após a transferência a placa foi vedada com papel filme.

Após o isolamento e identificação do patógeno, foram obtidas culturas puras em placas de Petri contendo meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) e incubados em temperatura ambiente ( $25 \pm 2$  °C), por sete dias.

### Obtenção dos extratos aquosos

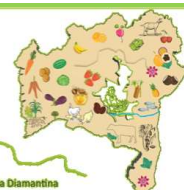
Foram utilizados dois tipos de extratos vegetais de partes frescas e secas das amostras. Para obtenção das amostras secas, partes vegetais foram armazenadas em estufa de ventilação forçada a 50 °C até as amostras apresentarem peso constante, em seguida elas foram trituradas em um moinho. As amostras frescas foram maceradas com o auxílio de almofariz e pistilo em água destilada (Figura 1). As amostras secas e frescas foram diluídas em água destilada, coadas, e adicionadas em meio de cultura BDA ajustando para 5 % e 25% de extratos na concentração final do meio de cultura.



**Figura 1:** Frutos e folhas de aroeira e mamona maceradas para produção dos extratos.

O fungicida tebuconazol foi utilizado nos volumes de  $V_1 = 0,1$ ;  $V_2 = 0,2$  ml, obtendo a concentração final de 0,05 ppm e 0,25 ppm de tebuconazol no meio de cultura BDA.

### Efeito dos extratos vegetais sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum sp*



## ARTIGO

Foi empregado o delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial constituído por 11 tratamentos (2 extratos vegetais, x 2 concentrações 5% e 25%, x 2 tipos de materiais fresco e seco, + 2 controles positivos Tebuconazol a 0,05 ppm e 0,25 ppm, + 1 controle negativo apenas meio BDA) e x 4 repetições sendo cada placa de Petri considerada uma parcela (Figura 2).

Discos de oito milímetros de diâmetro de cultura do fungo *Colletotrichum* sp. foram transferidos para o centro, em cada placa de Petri, previamente vertida com os extratos homogeneizados em suas devidas concentrações no BDA. Estas placas foram vedadas com papel filme e incubadas em condições ambiente a  $(25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C})$ .



**Figura 2:** Placas com os tratamentos dispostas na bancada para crescimento do fungo.

### Avaliações

As avaliações consistiram em medições diárias do diâmetro das colônias em dois sentidos perpendiculares por meio de régua Milimetrada, iniciadas 24 horas após a incubação e encerradas após 7 dias, quando as colônias fúngicas, do tratamento testemunha, atingiram toda a superfície do meio. A partir dos dados determinou-se a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICM) por meio da fórmula:

$$\text{PICM} = (\text{Diâmetro da testemunha} - \text{diâmetro do tratamento}) \times 100$$



## ARTIGO

### Diâmetro da testemunha

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F a 1% de significância, e para o caso de diferenças significativas entre os tratamentos, foi realizado teste de medias de Tukey a 5%, utilizando o software SISVAR (FERREIRA, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observando a tabela 2, é possível verificar que o extrato de aroeira inibiu o crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. obtendo os melhores resultados significativamente ( $P \leq 0,001$ ), tanto o extrato fresco, quanto o extrato seco na concentração de 25%, com destaque para o extrato de aroeira seco, que apresentou 70,07% de inibição no crescimento micelial no terceiro dia, 65,90% com cinco dias e 65,24% aos 7 dias, diferindo estatisticamente de todos os outros tratamentos, sendo inferior apenas aos tratamentos com Tebuconazol a 0,05 ppm, que apresentou 100% de inibição com 3 dias, 96,07 com 5 dias e 94,51 com 7 dias, e na concentração 0,25 ppm, que apresentou 100% de inibição em todos os dias avaliados. Os tratamentos com aroeira a 5% não apresentaram resultados satisfatórios, tanto o seco, quanto o fresco em todos os dias avaliados, não diferindo estatisticamente da testemunha que apresentou 0,00 % de inibição do crescimento micelial, com exceção do extrato de aroeira seco, que no 5º dia, apresentou 10,74% de inibição, diferindo ( $P \leq 0,001$ ) da testemunha.

GARCIA et al. (2012), utilizaram extrato de folhas secas de aroeira, no controle do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*, em seus resultados, não houve nenhum efeito fungitóxico por parte da aroeira ao fungo. Esse fato diverge dos resultados encontrados no presente estudo. Essa divergência pode ser explicada pelo fato de nesse estudo, ter sido utilizado além das folhas da aroeira, os frutos, sugerindo assim que os compostos fungitóxicos estão presentes em maiores concentrações nos frutos da aroeira. OLIVEIRA JUNIOR et al. (2013), inibiram o crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. em 79,07%, utilizando óleo essencial de frutos de aroeira, na concentração de 0,50%. Já DOS SANTOS et al. (2014), em testes com óleo de sementes secas e frescas de aroeira, inibiram 100% do crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. e de *Lasiodiplodia theobromae*, na concentração de 3%. Esses estudos corroboram com a hipótese que os metabólitos fungitóxicos, estão presentes em maior concentração nos frutos de aroeira.

**ARTIGO****TABELA 2.** Efeito de extratos de Aroeira e Mamona em diferentes concentrações (5% e 25%) sobre a porcentagem de inibição do crescimento de *Colletotrichum* sp.

Tratamentos	Avaliações		
	3 Dias	5 Dias	7 Dias
Aroeira seca 5%	3,28 fe*	10,74 d	4,57 ed
Aroeira seco 25%	70,07 b	65,90 b	65,24 b
Aroeira fresco 5%	4,16 fe	2,68 e	0,00 e
Aroeira fresco 25%	20,07 c	23,96 c	19,2 c
Mamona seco 5%	10,60 d	2,68 e	4,42 e
Mamona seco 25%	6,81 ed	13,63 d	1,35 d
Mamona fresco 5%	0,00 g	0,00 e	0,00 e
Mamona fresco 25%	3,40 fe	2,68 e	1,52 e
Tebuco 0,05	100 a	96,07 a	94,51 a
Tebuco 0,025	100 a	100 a	100 a
Testemunha	0,00 g	0,00 e	0,00 e
CV%	7,46	7,59	18,23

\*Médias seguidas por letras distintas diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Em estudos realizados por OLIVEIRA JUNIOR et al. (2013), eles verificaram que partes vegetais da aroeira (*Schinus terebinthifolius*), possui em sua composição monoterpeno limoneno em extrassão aquosa, sendo esse monoterpeno um possível princípio ativo contra o crescimento micelial do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. SILVA et al (2015), verificaram que o extrato etanólico das folhas de aroeira, apresentaram resultados positivos para alcaloides, flavonoides e taninos.

Os extratos de mamona nas concentrações de 5 e 25% frescos, não apresentaram nenhum efeito fungitóxico em todos os dias avaliados, não diferindo ( $P > 0,001$ ) da testemunha. Em estudos realizados por NASCIMENTO et al. (2013) com extrato aquoso de mamona para redução da taxa de crescimento micelial de *Cercospora calendulae*, o extrato de mamona não apresentou resultados significativos. Os extratos de mamona secos apresentaram melhores resultados no 3º dia para 5% de concentração e no 5º dia para 25%, apresentando 10,60% e 13,63% de inibição respectivamente. Esses valores diferem da testemunha ( $P \leq 0,001$ ), porem ficaram bem abaixo da inibição máxima obtida com a utilização do extrato de aroeira seco, que apresentou 70,07% no terceiro dia de avaliação e 65,90% no quinto dia. TAKANO et al., (2007) evidenciaram efeito supressor do crescimento micelial de *Pyricularia oryzae*, utilizando óleo de mamona na concentração de 200mL. L<sup>-1</sup> após 48 horas.

## ARTIGO

Esses resultados demonstram que a depender do solvente utilizado e da parte vegetal processada, vão ser liberados compostos diferentes em variadas concentrações nos extratos vegetais.

Com isso, se faz necessários estudos mais aprofundados com extratos de mamona e aroeira, para verificar precisamente quais as partes vegetais e quais solventes são mais adequados para produção de extratos, que possuam maiores efeitos sobre microrganismos fitopatogênicos.

## CONCLUSÃO

Extrato de aroeira apresenta maior efeito fungistático, quando produzido com material vegetal seco. O extrato de aroeira seco a 25%, inibi o crescimento micelial de *Colletotrichum* sp..

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRÉ, T. B.; SANTOS, A. C. **Uso de produtos da cultura da mandioca (*manihot*) na produção animal**. Goiânia-GO: Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer, v.8, n.15, p. 1622-1647, 2012.

AMORIM, A. C. L. **Caracterização química da *Copaifera langsdorffi* Desfone e avaliação da sua atividade fungitóxicas**. 94 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2003.

BASTOS, C. N. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipelis perniciosus* e outros fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 3, p. 441-443, 1997.

BENATO, E.A., SIGRIS, J.M.M., HANASHIRO, M.M., MAGALHÃES, M.J.M.; BINOTTI, C.S. Avaliação de fungicidas e produtos alternativos no controle de podridões pós-colheita em maracujá-amarelo. **Summa Phytopathologica**, 28: 299-304, 2002.

CEBALLOS, H. et al. Cassava breeding: opportunities and challenges. **Plant Molecular Biology**, v. 56, n. 4, p. 503–516, 2004.

DOS SANTOS, Í.; SANTOS, T., DA SILVA, F.; GAGLIARDI, P.; DE OLIVEIRA JUNIOR, L.; BLANK, A. Óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi como controle alternativo de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Lasiodiplodia theobromae*, fungos fitopatogênicos de pós-colheita. **GEINTEC-Gestão, Inovação e Tecnologias**, v. 4, n. 4, p. 1409-1417, 2014.



**ARTIGO**

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. **Reunião anual da região brasileira da sociedade internacional de biometria**, v. 45, n.2000, p. 235, 2000.

FIALHO, J. D. F.; VIEIRA, E. A. Seleção participativa de variedades de mandioca na agricultura familiar. **Embrapa Cerrados**. 76p, 2011.

FOKUNANG, C. N. et al. Cultural, morphological and pathogenic variability in *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. manihotis isolates from cassava (*Manihot esculenta*) in Nigeria. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 3, n. 4, p. 542-546, 2000.

GARCIA, R. Á.; JULIATTI, F. C.; BARBOSA, K. A. G.; CASSEMIRO, T. A. Atividade antifúngica de óleo e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 1, 2012.

KUHN, O.J.; PORTZ, R.L.; STANGARLIN, J.R.; DEL ÁGUILA, R.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; FRANZENER, G. Efeito do extrato aquoso de cúrcuma (*Curcuma longa*) em *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. **Semana: Ciências Agrárias**, Londrina, 27(1): 13-20, 2006.

MACHADO, A. R. et al. New occurrences of Botryosphaeriaceae causing black root rot of cassava in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 39, n. 6, p. 464-470, 2014.

MORAIS, M. S. et al. Levantamento e avaliação da incidência das doenças da mandioca no estado da Paraíba. **Summa Phytopathologica**, v. 39, n. 3, p. 204-206, 2013.

NASCIMENTO, J. M.; SERRA, A. P.; BACCHI, L. M.; GAVASSONI, W. L.; VIEIRA, M. C. Inibição do crescimento micelial de *Cercospora calendulae* Sacc. por extratos de plantas medicinais. **Rev. Bras. Pl. Med**, v. 15, n. 4 supl I, p. 751-756, 2013.

OLIVEIRA JUNIOR, L. F. G.; SANTOS, R. B.; REIS, F. O.; MATSUMOTO, S. T.; BISPO, W. M. S.; MACHADO, L. P.; OLIVEIRA, L. F. M. Fungitoxic effect of essential oil from aroeira (*Schinus terebinthifolius* RADDI) on *Colletotrichum gloeosporioides*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 1, p. 150-157, 2013.

RODRIGUES, E.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; FIORI-TUTIDA, A.C.G.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de alface em sistema de cultivo orgânico contra *Sclerotinia sclerotiorum* pelo extrato de gengibre. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, 33(2):124-128, 2007.

SILVA, A. F.; SANTANA, L. M.; FRANÇA, C. R. R. S.; MAGALHÃES, C. A. S.; ARAÚJO, C. R.; AZEVEDO, S. G. **Produção de diferentes variedades de mandioca em sistema agroecológico.**

**ARTIGO**

---

Campina Grande-PB: Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v.13, n.1, p.33-38, 2009.

SILVA, L. R.; OLIVEIRA, A. A.; LIMA, R. A. Identificação dos metabólitos secundários do extrato etanólico das folhas de *Schinus terebinthifolius* RADDI. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 2, n. 2, 2015.

SILVA, H. S. A.; ANDRADE, E. S. Impacto potencial das mudanças climáticas sobre as doenças da mandioca no Brasil. In: GHINI, R.; HAMADA, E.; BETTIOL, W. (Eds). **Impactos das mudanças climáticas sobre doenças de importantes culturas no Brasil**. Embrapa Meio Ambiente, 356 p. 2011.

SOYLU, E. M.; KURT, S.; SOYLU, S. *In vitro* and *in vivo* antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 143, n. 3., p. 183-189, 2010.

TAKANO, E. H.; BUSSO, C.; GONÇALVES, E. A. L.; CHIERICE, G. O.; CATANZAROGUIMARÃES, S. A.; CASTRO-PRADO, M. A. A. Inibição do desenvolvimento de fungos fitopatogênicos por detergente derivado de óleo da mamona (*Ricinus communis*). **Ciência Rural**, v.37, n.5, p. 1235-1240. 2007.

WYDRA, K.; VERDIER, V. Occurrence of cassava diseases in relation to environmental, agronomic and plant characteristics. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 93, p. 211-226, 2002.