Journal of Agronomic Sciences
ISSN: 2316-1809

AÇÃO DO EXTRATO DE ALECRIM CONTRA *Colletotrichum gloeosporioides* E *Fusarium spp.*

Eloisa Lorenzetti[1], Vanessa de Oliveira Faria[2], Juliana Yuriko Habitzreuter Fujimoto[2], Dablieny Hellen Garcia Souza[2], Adrieli Luisa Ritt[3], Juliano Tartaro[4], Alfredo José Alves Neto[1] e José Renato Stangarlin[5]

(1)Doutorando em Produção Vegetal, linha de pesquisa Fitossanidade e Controle Alternativo, Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste, *Campus* Marechal Cândido Rondon. E-mail: eloisa-lorenzetti@hotmail.com.
(2)Doutorando em Produção Vegetal, linha de pesquisa Fitossanidade e Controle Alternativo, Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste, *Campus* Marechal Cândido Rondon. E-mail: dabligarcia@hotmail.com; wanessa_olfr@hotmail.com; julianafujimoto@outlook.com;
(3)Discente de Agronomia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste, *Campus* Marechal Cândido Rondon. E-mail: adrieliritt@hotmail.com.
(4)Engenheiro agrônomo, Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste, *Campus* Marechal Cândido Rondon. E-mail: julianotartaro@hotmail.com.
(5)Docente da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste, *Campus* Marechal Cândido Rondon. E-mail: jose.stangarlin@unioeste.br.
Autor para correspondência: Eloisa Lorenzetti (eloisa-lorenzetti@hotmail.com).

RESUMO: Extratos vegetais vem sendo amplamente utilizados dentro do controle alternativo. O objetivo deste estudo foi verificar o efeito do extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) nas concentrações de 0%, 1%; 2,5%; 5%; 7,5% e 10% contra *Colletotrichum gloeosporioides* e *Fusarium* spp. Foram realizados ensaios in vitro buscando avaliar o crescimento micelial dos fungos e o número de esporos formados. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com cinco repetições. Através do método das medidas diametralmente opostas foi possível calcular a área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) e através da última avaliação de crescimento determinou-se a área final da colônia (AFC), sendo na sequência realizada a contagem dos esporos para cada patógeno. Através da análise de regressão encontrou-se equações quadráticas que representaram o comportamento de cada fungo. Para *C. gloeosporioides*, a AACCM, AFC e número de esporos produzidos, apresentaram pontos de mínimas nas concentrações 7,10%, 7,32% e 7,30% do extrato de alecrim, respectivamente. Já para *Fusarium* spp. a AACCM e AFC apresentaram pontos de mínima nas concentrações 8,53% e 7,87% do extrato de alecrim, enquanto que para o número de esporos verificou-se um ponto de máxima sendo este na concentração 6,53% do extrato de alecrim, ou seja, esta concentração promoveu um incremento na produção dos esporos do patógeno. Esses resultados indicam o potencial antimicrobiano do extrato de alecrim contra *C. gloeosporioides* e potencial parcial do extrato de alecrim para *Fusarium* spp.

PALAVRAS-CHAVE: Controle Alternativo, Crescimento micelial, Planta medicinal, *Rosmarinus officinalis* L.

ACTION OF ROSEMARY EXTRACT AGAINST *Colletotrichum gloeosporioides* AND *Fusarium* spp.

ABSTRACT: Extracts vegetables have been widely used within alternative control. The objective of this study was to verify if the effect of rosemary extract (*Rosmarinus officinalis* L.)

Journal of Agronomic Sciences
ISSN: 2316-1809
at concentrations of 0%, 1%; 2.5%; 5%; 7.5% and 10% against *Colletotrichum gloeosporioides* and Fusarium spp. In vitro assays were carried out to investigate fungal growth and the number of spores formed. The design was completely randomized with five replications. The method of diametrically viable measurements is an area below the mycelial growth curve (AACCM) and has been a sequence of performing a spore count for each. pathogen. Through the regression analysis, we find quadratic equations that represent the behavior of each fungus. For *C. gloeosporioides*, a AACCM, AFC and number of spores produced, light points of luxury in the analyzes 7.10%, 7.32% and 7.30% of the rosemary extract, respectively. Already for *Fusarium* spp. AACCM and AFC 8.53% of the rosemary extract, 8.53% and 7.87% of the rosemary extract, while the number of spores was verified, that is, this concentration promoted an increase in the spore production of the pathogen. Pt results found the antimicrobial potential of rosemary extract against *C. gloeosporioides* and partial potential of rosemary extract for *Fusarium* spp.

KEY WORDS: Alternative Control, Mycelial growth, Medicinal plant, *Rosmarinus officinalis* L.

INTRODUÇÃO

O gênero *Colletotrichum* compreende inúmeras espécies responsáveis por perdas de produção em cereais, hortaliças, plantas perenes, frutíferas e ornamentais (Sutton,1980) e uma das espécies é o *C. gloeosporioides,* agente causal da antracnose. Outro gênero de elevada importância agronômica por causar doenças em um grande número de plantas, é o gênero *Fusarium* (Wakelin et al., 2008) agente causal de murcha vascular, *damping off* e podridões tanto de colo como de raiz (Agrios, 2005).

Buscando diminuir os danos causados por esses patógenos, é importante a utilização de métodos de controle (Bergamin Filho; Amorim, 2018), sendo que os métodos denominados alternativos devem ser estudados devido ao baixo impacto ao meio ambiente, baixo custo e por preservar a saúde de animais e seres humanos, além de serem uma alternativa para a agricultura orgânica, muito procurada por pessoas preocupadas com a saúde e a qualidade dos produtos que consomem (Hamerschmidt et al., 2012).

Neste contexto, destaca-se a utilização de extratos de plantas medicinais os quais possuem componentes biologicamente ativos que podem ter ação sobre determinados organismos (Simon et al., 2016) por atividade antimicrobiana (Costa et al., 2017), inibindo o crescimento micelial (Ferreira et al., 2014) ou até mesmo proporcionando a diminuição da germinação de esporos (Itako et al., 2008) o que torna viável seu uso em preparados fitossanitários (Camatti-Sartori et al., 2011).

Entre uma infinidade de plantas medicinais pode-se citar o alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), vegetal muito estudo (Ruppelt et al., 2015) e utilizado no controle alternativo

Journal of Agronomic Sciences
ISSN: 2316-1809

por apresentar uma infinidade de compostos e substâncias (Gachkar et al., 2007), sendo verificado em diversos trabalhos, seu potencial antifúngico controlando diversos patógenos (Lorenzetti et al., 2017a; Scapin et al., 2010).

Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo investigar o possível efeito fungitóxico do extrato de alecrim sobre o desenvolvimento de *C. gloeosporioides* e *Fusarium* spp.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *Campus* de Marechal Cândido Rondon, PR, sendo o fungo *C. gloeosporioides* isolado de mamão acometido pela doença de forma direta, enquanto o *Fusarium* spp. foi cedido pela micoteca do laboratório citado a cima.

O extrato de alecrim utilizado foi obtido através da trituração em liquidificador de 50 g de folhas frescas de alecrim, colhidas pela manhã minutos antes da utilização, e 450 mL de água destilada, sendo triturados em velocidade máxima durante dois minutos, e em seguida, o extrato aquoso bruto obtido da trituração em liquidificador foi passado em peneira de 48 Mesh, obtendo assim o extrato bruto de alecrim na concentração 10%.

Foi utilizado como tratamento o extrato de alecrim nas concentrações 0%, ou seja, apenas água destilada, 1%, 2,5%, 5%, 7,5% e 10%, assim realizou-se a diluição pela adição de água destilada, para as demais concentrações utilizadas (1%, 2,5%, 5%,7,5%).

Para determinação da atividade antimicrobiana utilizou-se o meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar) no qual adicionou-se as diferentes concentrações do extrato de alecrim, 0%, 1%; 2,5%; 5%; 7,5% e 10%, sendo o meio primeiramente fundido em micro-ondas e posteriormente, autoclavado a 120 ºC por 20 minutos. Após, os meios com as diferentes concentrações do extrato de alecrim foram vertidos em placas de Petri estéreis e esperou-se a total solidificação.

No centro de cada placa de Petri foi adicionado um disco de 0,5 cm de diâmetro, disco este retirado de uma placa de Petri contendo meio BDA e o fungo *C. gloeosporioides* com cerca de 14 dias no centro de cada placa, sendo o mesmo procedimento realizado para o e *Fusarium* spp.

As placas Petri foram vedadas, incubadas a 25 °C e após 24 horas houve o crescimento das primeiras hifas, sendo, portanto, realizada a primeira avaliação. As avaliações ocorreram a

Journal of Agronomic Sciences
ISSN: 2316-1809

cada 24 horas até o momento que as colônias fúngicas atingiram a borda da placa de Petri e foram medidos os diâmetros opostos de cada placa conforme Lorenzetti et al. (2016). Os dados obtidos foram utilizados para realização do cálculo da área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) e os dados do último dia de avaliação foram utilizados para determinar a área final de colônia (AFC).

Ao fim das avaliações, retirou-se de cada placa uma amostra de 0,1 cm^2 do meio contendo o micélio com os esporos e realizada a contagem em microscópio.

Para ambos os fungo utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis tratamentos (extrato bruto aquoso de alecrim nas concentrações 0%; 1%; 2,5%, 5%, 7,5% e 10%) e cinco repetições, formando um total de 30 parcelas experimentais, sendo cada uma representada por uma placa de Petri.

A análise estatística foi obtida pelo software livre Genes (Cruz, 2013) e as médias submetidas a análise de regressão ao nível de 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito do extrato de alecrim sobre a AFC de *C. gloeosporioides,* conforme figura 1A, foi representado por equação quadrática com redução de até 30% no crescimento micelial, sendo o ponto de mínima, ou seja, a máxima redução, atingida com a utilização da concentração 7,32% do extrato bruto de alecrim.

Para AACCM conforme figura 1B, o extrato de alecrim novamente apresentou comportamento representado por equação quadrática sendo este parecido com o encontrado para AFC. A redução da AACCM foi superior a 28%, demonstrando interferência do extrato de alecrim no desenvolvimento do fungo. A maior redução da AACCM foi registrada na concentração 7,10% do extrato bruto de alecrim, sendo este o ponto de mínima da equação.

Journal of Agronomic Sciences
ISSN: 2316-1809

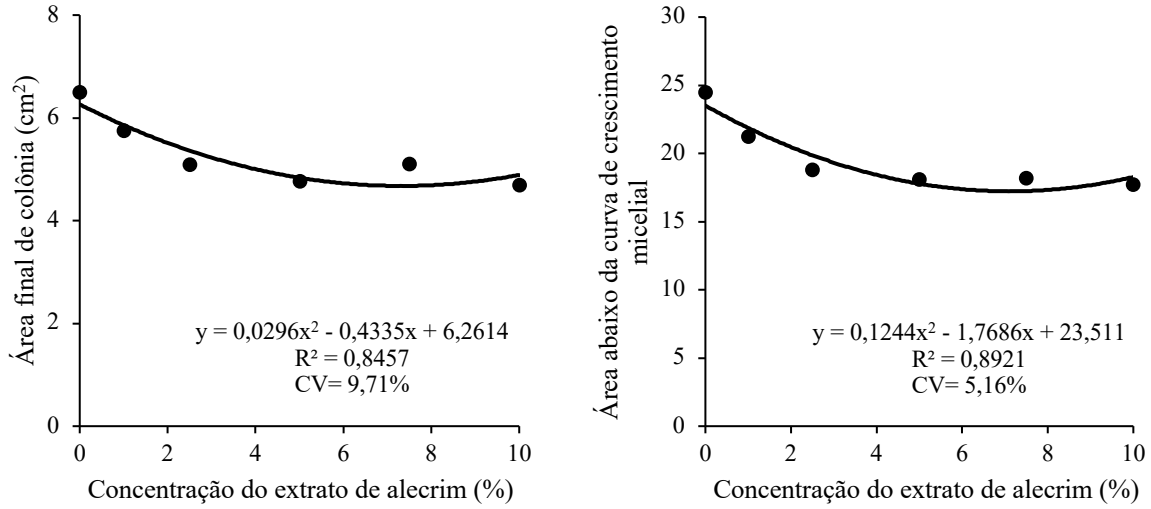

Figura 1 - (A) Área final de colônia (AFC) **(B)** Área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio de cultura sólido batata, dextrose e ágar (BDA) com concentrações (0%, 1%, 2,5%, 5%, 7,5% e 10%) de extrato bruto aquoso de folhas de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.).

Os resultados demostram que o uso do extrato de alecrim na concentração de aproximadamente 7% proporciona redução tanto da AFC quanto da AACCM.

Para *Fusarium* spp. a partir da equação obtida pela regressão foi possível verificar diminuição da AFC e da AACCM, conforme Figura 2A e 2B, respectivamente.

Para AFC de *Fusarium* spp., conforme figura 2A, a equação quadrática demostrou diminuição superior a 31% se comparado a concentração 0% do extrato de alecrim, sendo o ponto de mínima registrado na concentração 7,87% do extrato.

Conforme se observa na Figura 2B, para AACCM, as concentrações do extrato de alecrim apresentaram comportamento parecido com o encontrado para AFC, com diminuição da AACCM de quase 34% registrada no ponto de mínima próximo a 8,53% de extrato de alecrim.

Journal of Agronomic Sciences
ISSN: 2316-1809

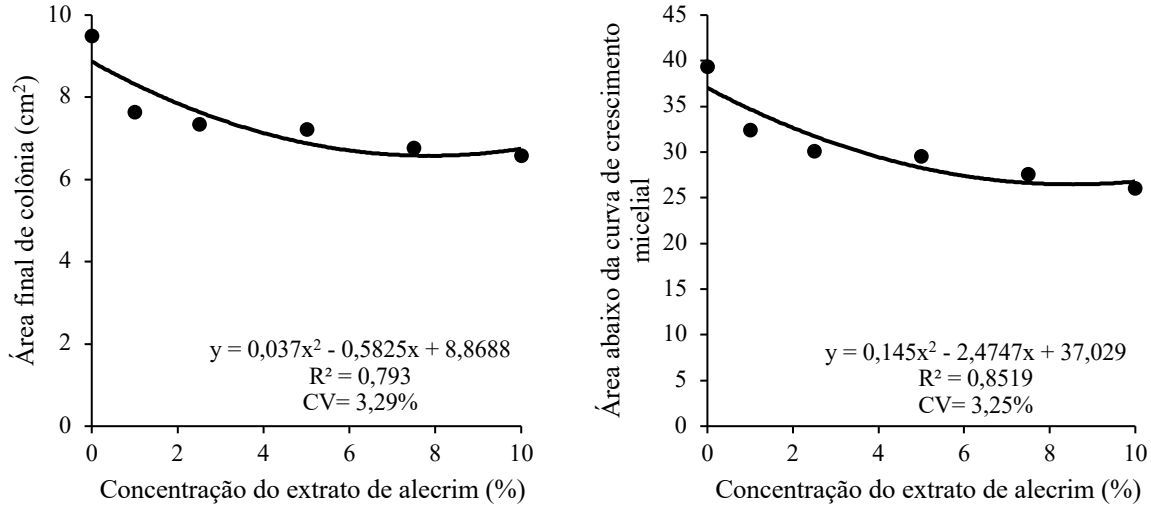

Figura 2 - (A) Área final de colônia (AFC) **(B)** Área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) de *Fusarium* spp. em meio de cultura sólido batata, dextrose e ágar (BDA) com concentrações (0%, 1%, 2,5%, 5%, 7,5% e 10%) de extrato bruto aquoso de folhas de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.).

O extrato de alecrim apresentou efeito positivo com diminuição tanto da AACCM quanto AFC para ambos os fungos estudados, sendo resultados semelhantes verificados por diversos autores estudando este mesmo extrato em diferentes patógenos, como por exemplo, *Alternaria* spp. (Díaz Dellavalle et al., 2011), *Macrophomina phaseolina* (Lorenzetti et al., 2017a), *Cladosporium fulvum* (Itako et al. 2009), *Exserohilum turcicum* (Scapin et al., 2010) e *Metarhizium anisopliae* (Formentini et al., 2014).

Com relação ao número de esporos por área para *C. gloeosporioides* foi possível representar os dados obtidos por meio de equação quadrática, onde observou-se a maior diminuição do número de esporos na concentração 7,30% de extrato de alecrim, sendo este, o ponto de mínima da equação apresentando redução superior a 36% comparado a concentração 0% do extrato de alecrim, conforme figura 3A.

De acordo com a figura 3B, pode-se verificar que para *Fusarium* spp., o extrato de alecrim não proporcionou diminuição do número de esporos formados, mas sim, elevou a formação destes. Verificou-se na concentração 6,5% do extrato de alecrim o maior número de esporos formados, sendo, portanto, o ponto de máxima da equação com aumento de 17% comparado a água.

Journal of Agronomic Sciences
ISSN: 2316-1809

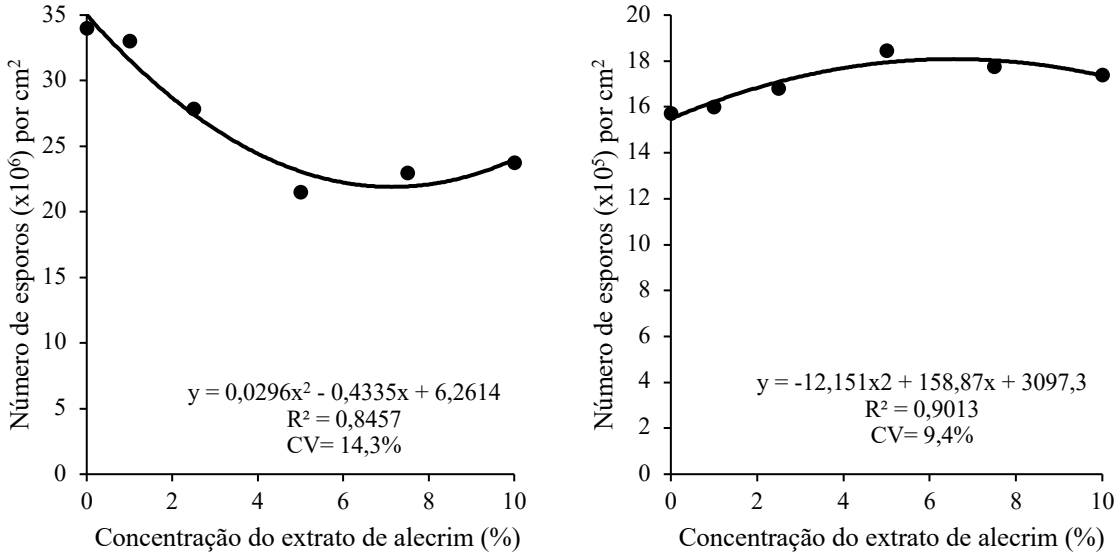

Figura 3 - Número de esporos de *Colletotrichum gloeosporioides* **(A)** e *Fusarium* spp. **(B)** em meio de cultura sólido batata, dextrose e ágar (BDA) com concentrações (0%, 1%, 2,5%, 5%, 7,5% e 10%) de extrato bruto aquoso de folhas de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.).

A diminuição do número de esporos verificada para *C. gloeosporioides* também foi encontrada em trabalho realizado por Itako et al. (2008) utilizando a concentração de 10% de extrato de alecrim, onde houve redução de quase 79% para *Alternaria solani*.

Corrobando com estes resultados Itako et al. (2009) também obteve diminuição superior a 85% no número de esporos de *Cladosporium fulvum* com a concentração de 20% do extrato de alecrim e redução superior a 93% com a concentração 40% deste mesmo extrato.

Em estudo realizado por Lorenzetti et al., (2016) utilizando o extrato de alecrim e o fungo *Macrophomina phaseolina*, os autores observaram diminuição da produção de micro-esclerodios, os quais podem ser comparados a esporos devido a sua função já que favorecem a sobrevivência e contribuem na disseminação do patógeno.

O aumento do número de esporos para *Fusarium* spp. pode ter ocorrido de acordo com Lorenzetti et al. (2017b), devido a algum composto do extrato de alecrim que pode ter ação sobre o fungo deixando-o em estado de estresse devido a redução do crescimento micelial, podendo elevar o número de esporos formados na busca de assegurar sua perpetuação. Estes mesmos autores estudando *Fusarium solani,* também verificaram a diminuição do crescimento micelial e o aumento do número de esporos utilizando diferentes concentrações do extrato bruto aquoso de alecrim.

Journal of Agronomic Sciences
ISSN: 2316-1809

Assim, mais estudos devem ser realizados buscando investigar os resultados do extrato de alecrim em casa de vegetação e a campo utilizando plantas hospedeiras dos patógenos estudados, no intuito de encontrar uma alternativa para controle destes patógenos tanto na agricultura convencional como, principalmente, na agricultura orgânica, que possui uma quantidade limitada de produtos que podem ser utilizados.

CONCLUSÕES

O extrato bruto aquoso de alecrim nas concentrações testadas, demostrou efeito fungitóxico contra *C. gloeosporioides.*

Para *Fusarium* spp., o extrato bruto aquoso de alecrim inibiu o crescimento micelial nas concentrações testadas o que demostra potencial antimicrobiano, porém, aumentou o número de esporos produzidos pelo fungo.

REFERÊNCIAS

AGRIOS, G.N. **Plant Pathology.** 5.ª ed. Burlington: Elsevier Academic Press, 2005. 922p.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Princípios gerais de controle. In: AMORIN, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia:** princípios de conceitos. 5. Ed. Ouro Fino: Ceres, v. 1, 2018. p. 215-228.2018 p.215-228.

CAMATTI-SARTORI, V.; MAGRINI, F.E.; CRIPPA, L.B.; MARCHETT, C.; VENTURIN, L.; SILVA-RIBEIRO, R.T. Avaliação *in vitro* de extratos vegetais para o controle de fungos patogênicos de flores. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.6, p.117-122, 2011.

COSTA, N.C.; CHAGAS JUNIOR, A.F.; RAMOS, A.C.C.; SOARES, L.P.; SCHEIDT, G.N. Atividade antimicrobiana e análise fitoquímica preliminar do extrato vegetal de alho no controle de fungos fitopatogênicos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.12, p.161-166, 2017.

CRUZ, C.D. Genes: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.35, p.271-276, 2013.

DÍAZ DELLAVALLE, P.; CABRERA, A.; ALEM, D.; LARRAÑAGA, P.; FERREIRA, F.; RIZZA, M.D. Antifungal activity of medicinal plant extracts against phytopathogenic fungus *Alternaria* spp. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v.71, p.231-239, 2011.

FERREIRA, E.F.; JOSÉ, A.R.S.; BOMFIM, M.P.; PORTO, J.S.; JESUS, J.S. Uso de extratos vegetais no controle *in vitro* do *Colletotrichum gloeosporioides* penz. coletado em frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.). ***Revista Brasileira* de Fruticultura**, v.36, p.346-352, 2014.

Journal of Agronomic Sciences
ISSN: 2316-1809

FORMENTINI, M.A.; ALVES, L.F.A.; PINTO, F.G.S.; MAMPRIM, A.P. *In vitro* assay of alternative phytossanitary products and plant extracts on *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. (Clavicipitaceae). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.9, p.195-204, 2014.

GACHKAR, L.; YADEGARI, D.; REZAEI, M.B.; TAGHIZADEH, M.; ASTANEH, S.A.; RASOOLI, I. Chemical and biological characteristics of Cuminum cyminum and *Rosmarinus officinalis* essential oils. **Food Chemistry,** v.102, n.3, p.898-904, 2007.

HAMERSCHMIDT, I.; TOLEDO, M.V.; POPIA, A.F.; ASSIS, O. **Manual de olericultura orgânica.** Curitiba: Emater, 2012. 129p.

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**, v.76, p.75-83, 2009.

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

LORENZETTI, E.; NETO, A.A.; SILVA, I.F.; STANGARLIN, J.R. Ação do extrato de alecrim contra *Phytophthora* sp. e *Fusarium solani*. **Revista cultivando o saber**, v.10, p.50-57, 2017b.

LORENZETTI, E.; STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J. Antifungal activity of rosemary extract on *Macrophomina phaseolina* and charcoal rot control in soybean. **Journal of Plant Pathology**, v.99, p.777-780, 2017a.

LORENZETTI, E.; STANGARLIN, J.R.; TREIB, E.L.; HELING, A.L.; COLTRO-RONCATO, S.; CARVALHO, J.C.; HOEPERS, L.; RISSATO, B.B.; COPPO, J.C.; BELMONTE, C.; KUHN, O.J.; SILVA, I.F. Antimicrobial action against of *Macrophomina phaseolina* and control of the grey stem in soybean by homeopathic remedies *Nosode* and *Sulphur*. **African Journal of Agricultural Research**, v.11, p.3412-3417, 2016.

NOGUEIRA, D.R.S.; ALBUQUERQUE, L.B.; ARAÚJO, J.A.M.; VALE, E.V.G.; SALES JÚNIOR, R. Eficiência de *Bacillus subtilis* e *B. pumilus* no controle de *Podosphaera xanthii* em meloeiro. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.6, p.125-130, 2011.

RUPPELT, B.M.; KOZERA, C.; ZONETTI, P.C.; PAULERT, R.; STEFANELLO, S. **Plantas medicinais utilizadas na região oeste do Paraná.** Curitiba: UFPR, 2015, 126p.

SCAPIN, C.R.; CARNELOSSI, P.R.; VIEIRA, R.A.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S. Fungitoxidade *in vitro* de extratos vegetais sobre *Exserohilum turcicum* (Pass) Leonard & Suggs. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.12, n.1, p.57-61, 2010.

SUTTON, B.C. **The Coelomycetes.** Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1980. 696p.

Journal of Agronomic Sciences
ISSN: 2316-1809

SIMON; J.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; JARDINETTI, V.A.; OLIVA, L.S.C.; SILVA, J.B.; SCARABELI, I.G.R. Atividade fungitóxica de extratos vegetais e produtos comerciais contra *Diplocarpon rosae*. **Summa Phytopathologica**, v.42, p.351-356, 2016.

WAKELIN, S.A.; WARREN, R.A.; KONG, L.; HARVEY, P.R. Management factors affecting size and structure of soil *Fusarium* communities under irrigated maize in Australia. **Applied Soil Ecology,** v.39, p.201–209, 2008.