

## **FUNGITOXIDADE DE EXTRATO DE FALSO BOLDO SOBRE *Macrophomina phaseolina***

Eloisa Lorenzetti<sup>1</sup>, Anderson Luis Heling<sup>1</sup>, Alfredo José Alves Neto<sup>1</sup>, Cristiani Belmonte<sup>1</sup>,  
Itamar Ferreira da Silva<sup>2</sup>, Nicanor Pilarski Henkemeier<sup>1</sup>, Jeferson Carlos Carvalho<sup>1</sup>, José  
Renato Stangarlin<sup>1</sup>

<sup>(1)</sup> Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, Marechal Cândido Rondon – PR, Rua Pernambuco, 1777 - Centro, CEP: 85960-000, Fone: +55(45) 32847878, E-mail: eloisa-lorenzetti@hotmail.com; andersonlheling@gmail.com; alfredo.alves.neto@hotmail.com; cristianibelmonte@gmail.com; pilarskinicanor044@hotmail.com; jefersoncarvalho@outlook.pt; jrstangarlin@unioeste.br.

<sup>(2)</sup> Universidade Federal de Viçosa – UFV, Viçosa MG, Avenida Peter Henry Rolfs, s/n - Campus Universitário, CEP: 36570-900, Fone: +55(31) 3899-2200, E-mail: itamarfers@hotmail.com;

*RESUMO: A podridão carvão, causada pelo fungo *Macrophomina phaseolina*, é verificada em diversas culturas. O objetivo deste estudo foi verificar a atividade antimicrobiana com extrato aquoso de falso boldo nas concentrações 0%, 1%, 2,5%, 5%, 7,5% e 10%. Foi avaliado o crescimento micelial através da área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) e a produção de micro-escleródios pelo fungo. Para AACCM houve diferença estatística entre as concentrações do extrato de boldo testadas, sendo a redução máxima verificada na mais alta concentração do extrato de falso boldo testada, ou seja, 10%, o qual proporcionou redução de 23,80% comparado a testemunha (extrato de falso boldo na concentração 10%). Para micro-escleródios não houve diferença estatística entre as concentrações do extrato de falso boldo testadas. Estes resultados indicam o potencial antimicrobiano do extrato de falso boldo para o fungo *M. phaseolina*.*

**Palavras-chave:** Controle Alternativo, *Plectranthus barbatus*, Podridão carvão.

## **FUNGITOXICITY OF FALSE BOLDO EXTRACT ON *Macrophomina phaseolina***

*ABSTRACT: The charcoal rot, caused by the fungus *Macrophomina phaseolina*, is verified in several cultures. The objective of this study was to verify the antimicrobial activity with aqueous extract of false boldo in concentrations 0%, 1%, 2,5%, 5%, 7,5% and 10%. Mycelial growth across the area under the mycelial growth curve (AUMGC) and the production of micro-sclerotia by the fungus were evaluated. For AUMGC there was a statistical difference between the concentrations of false boldo extract tested, being the maximum reduction verified in the highest concentration of the boldo extract tested, that is, 10%, which provided a reduction of 23.80% compared to the control (extract of false boldo at 10% concentration). For micro-sclerotia there was no statistical difference between the concentrations of false boldo extract tested. These results indicate the antimicrobial potential of the false boldo extract for the fungus *M. phaseolina*.*

**Key words:** Alternative Control, *Plectranthus barbatus*, charcoal rot.

## **INTRODUÇÃO**

Um dos fatores que limitem a produtividade das culturas é a ocorrência de doenças. A podridão cinzenta da haste ou podridão de carvão é uma doença causada pelo fungo *Macrophomina phaseolina*, muito encontrado em áreas de cultivo e em matas por ser um

habitante natural dos solos. Os sintomas dessa doença são variados dependendo da idade e espécie da planta (Almeida et al., 2014), sendo comum lesões escuras, deprimidas e o apodrecimento de raízes. A falta de chuva e solos compactados e rasos agravam os danos causados por esta doença levando inclusive a morte das plantas (Henning, 2009).

Como para muitas culturas não existe um controle químico nem cultivares resistentes a este fungo (Mengistu et al., 2011), e sendo a rotação de cultura uma prática pouco eficiente visto que o fungo é polífago (Godoy et al., 2016), justifica-se a utilização de métodos alternativos de controle, os quais objetivam a exploração econômica em longo prazo, mantendo o agroecossistema estável e auto-sustentável (Carneiro et al., 2011). Vários estudos demonstram potencial no controle de fitopatógenos através da utilização de extratos oriundos de plantas medicinais (Garcia et al., 2012).

Entre as inúmeras plantas medicinais encontra-se o boldo que no Brasil possui seis principais espécies vegetais assim nomeadas: boldo grande (*Plectranthus grandis*), falso boldo ou boldo brasileiro ou boldo-da-terra (*Plectranthus barbatus*), boldo gambá (*Plectranthus neochilus*), boldo miúdo (*Plectranthus amboinicus*), boldo baiano (*Vernonia condensata*) e boldo-do-chile (*Peumus boldus molina*) (Bandeira et al., 2011).

O falso boldo (*P. barbatus*) pertence ao gênero *Plectranthus* e a família Lamiaceae (Vicente et al. 2013) sendo rico em compostos como: guaieno e fenchona, terpenos (barbatusina, ciclobarbatusina, carioocal), triterpenóides e esteróides (Iganci et al., 2006) e suas folhas possuem substâncias com atividades bactericida e fungicida (Mauro et al., 2008).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi verificar a atividade antimicrobiana do extrato de boldo contra *M. phaseolina*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O isolado de *M. phaseolina* foi obtido a partir de raízes e caules de plantas de soja infectadas naturalmente. O fungo foi cultivado em placas de Petri com meio BDA e conservado neste meio para posterior utilização.

Para a obtenção do extrato, folhas de falso boldo foram trituradas com água destilada em liquidificador durante 2 minutos na proporção de 50 g de folhas para 450 mL de água destilada. Após, filtrou-se o extrato em peneira de 48 mesh e o bagaço retido nessa peneira foi prensado em pano e acrescentado ao extrato filtrado para melhor aproveitamento do mesmo. O extrato aquoso obtido na filtração com a peneira de 48 mesh foi novamente filtrado em uma peneira de 200 mesh, sendo o bagacilho retido na peneira prensado em pano e acrescentado ao extrato filtrado. O extrato aquoso obtido na filtração com a peneira de 200 mesh foi novamente

filtrado em uma peneira de 400 mesh, sendo o bagacilho retido na peneira descartado e o extrato filtrado final coletado. O filtrado final obtido foi considerado como extrato de boldo 10% que foi posteriormente diluído para 1%, 2,5%, 5% e 7,5% com água destilada.

Para a determinação da atividade antifúngica o extrato de *P. barbatus* nas concentrações indicadas foi incorporado ao meio de cultura BDA antes da autoclavagem a 120 °C, 1 atm por 20 minutos. Foi adicionado no centro de cada placa de Petri um disco de 1 cm de diâmetro segundo Lorenzetti et al. (2016). As placas permaneceram em temperatura de 25 °C e as medições diárias do diâmetro das colônias se iniciaram 24 h após a instalação do experimento e com os valores obtidos foi calculada a área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) pela equação:

$$AACCM = \left[ \left[ \frac{(Y_1 + Y_{1+1})}{2} * I \right] + \left[ \left[ \frac{(Y_2 + Y_{2+1})}{2} * I \right] \dots \left[ \left[ \frac{(Y_n + Y_{n+1})}{2} * I \right] \right] \right]$$

Onde:

AACCM= área abaixo da curva de crescimento micelial (adimensional);

$Y_i$  e  $Y_{i+1}$ = Tamanho do micélio do fungo observado em duas avaliações consecutivas (cm);

I= Intervalo entre duas avaliações consecutivas (dias).

Ao término do teste de inibição do crescimento micelial, avaliou-se o número de micro-escleródios de cada colônia a partir de uma amostra de micélio de 0,1 cm<sup>2</sup>.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos representados pelo extrato de *P. barbatus* nas concentrações 0%; 1%; 2,5%, 5%, 7,5% e 10% com sete repetições.

A análise estatística foi realizada com o auxílio do software SISVAR versão 5.3 (Ferreira, 2011). Os resultados foram submetidos a análise de variância e posteriormente submetidas ao teste de médias de Tukey ao nível de 5% de significância.

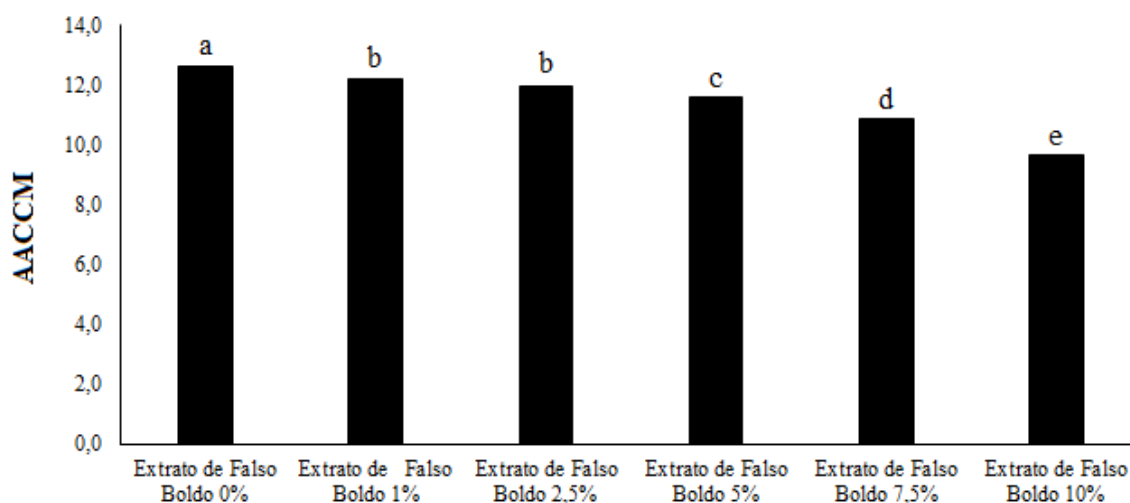
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a atividade antimicrobiana (Figura 1) a testemunha, ou seja, a concentração 0% do extrato de falso boldo diferiu de todos os demais tratamentos, sendo que a concentração 10% do extrato de falso boldo foi a que proporcionou menor área abaixo da curva de progresso da doença, indicando maior diminuição compara aos demais tratamentos sendo esta diminuição de 23,80% comparada a concentração 0% de extrato de falso boldo.

As concentrações 1% e 2,5% de extrato de boldo foram estatisticamente iguais entre si, diferindo das demais concentrações testadas. Comparada a concentração 0% do extrato de falso boldo proporcionaram diminuição de em média 3,96% na AACCM.

A concentração 5% do extrato de alecrim diferiu de todas as demais concentrações com diminuição de 7,93% da AACCM, e a concentração 7,5%, também diferiu das demais concentração, porém com redução de 13,49% na AACCM, comparada a concentração 0% do extrato de falso boldo.

**Figura 1** - Área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) de *M. phaseolina* em diferentes concentrações de extrato de falso boldo.



Também utilizando o extrato bruto das folhas de *P. barbatus* Silva et al. (2008) verificaram inibição de crescimento micelial de *Colletotrichum musae* (isolado de banana), *Colletotrichum gloeosporioides* (isolado de mamão), *C. gloeosporioides* (isolado de cacau) e *Colletotrichum lindemuthianum* (isolado de feijão) de 82%, 49%, 47% e 53%, respectivamente.

Siqueira Júnior et al. (2011) também verificaram potencial inibitório do crescimento de *C. gloeosporioides* utilizando o extrato de *P. barbatus*.

Figueiredo et al., concluíram que o extrato de folhas e flores de boldo é capaz de inibir o crescimento de *Colletotrichum musae* em pós colheita da banana.

Esses resultados demonstram o potencial de inibição de fungos fitopatogenicos pelo extrato de boldo, o que pode ser justificado pelos compostos presentes nesta planta medicinal. De acordo com Adam et al. (1998) metabólitos secundários como terpenos e compostos fenólicos são os responsáveis por essa atividade.

Além da ação sobre fungos, Costa (2002) e Matu e Staden (2003) ao avaliarem o extrato este mesmo extrato, confirmaram atividade antimicrobiana sobre bactérias Gram-positivas.

Para o número de micro-escleródios não houve diferença significativa entre os tratamentos testados (Tabela 1).

**Tabela 1** - Quantidade de micro-escleródios de *Macrophomina phaseolina* em meio BDA com diferentes concentrações do extrato aquoso de boldo. Os dados da contagem de micro-escleródios foram transformados em raiz de  $x+0,5$ .

Tratamentos	Número de micro-escleródios
Extrato de Falso Boldo 0%	117,525 <sup>ns</sup>
Extrato de Falso Boldo 1%	117,4375
Extrato de Falso Boldo 2,5%	117,0125
Extrato de Falso Boldo 5%	116,4375
Extrato de Falso Boldo 7,5%	116,5375
Extrato de Falso Boldo 10%	116,025
CV (%)	5,56

<sup>ns</sup>: Ausência de significância entre concentrações do extrato de boldo.

Os micro-escleródios do fungo testado são produzidos em elevada quantidade, favorecem a sobrevivência em condições adversas e germinam produzindo hifas, assim, poderiam ser considerados como propágulos assexuais (Alexopoulos et al., 1996), sendo que a redução da produção teria implicações epidemiológicas, porém, não se observou redução, neste estudo, com a utilização do extrato de boldo.

Essa ausência de diferença estatística pode ter ocorrido porque o extrato passou pelo processo de autoclavagem, a qual pode ter contribuído para a degradação de alguns compostos antimicrobianos que poderiam estar relacionados a essa estrutura estudada e que, não tivesse efeito no crescimento micelial.

## CONCLUSÃO

O extrato de boldo mostrou atividade fungitóxica direta contra *M. phaseolina*, representada pela redução no crescimento micelial.

## REFERÊNCIAS

ADAM, K.; SIVROPOULOU, A.; KOKKINI, S.; IANARAS, T.; ARSENAKIS, M. Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and

*Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Washington, v.46, p.1739-1745, 1998.

ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W.; BLACKWELL, M. **Introductory Mycology**. New York: John Wiley & Sons, 1996. 868p.

ALMEIDA, A.M.R.; SEIXAS, C.D.S.; FARIAS, J.R.B.; OLIVEIRA, M.C.N; FRANCHINI, J.C.; DEBIASI, H.; COSTA, J.M.; GAUDÊNCIO, C.A. **Macrophomina phaseolina em soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 55p.

BANDEIRA, J.M. Composição do óleo essencial de quatro espécies do gênero *Plectranthus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.13, n.2, p.157-164, 2011.

CARNEIRO, S.M.T.P.; TEIXEIRA, M.Z.; NECHAR, R.M.C.; LONNI, A.A.; RODRIGUES, M.R; FILIPPSSEN, L. **Homeopatia: princípios e aplicações na agroecologia**. Londrina: IAPAR, 2011. 234p.

COSTA, M.C.C.D. **Aspectos farmacológicos de *Plectranthus barbatus* Andr. (Lamiaceae): atividades antimicrobiana, citotóxica e antitumoral**. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Recife. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2002.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, p.1039-1042, 2011.

GARCIA, R.A.; JULIATTI, F.C.; BARBOSA, K.A.G; CASSEMIRO, T.A. Atividade antifúngica de óleos e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.28, n.1, p.48-57, 2012.

GODOY, C.V.; ALMEIDA, A.M.R.; COSTAMILAN, L.M.; MEYER, M.C.; DIAS, W.P.; SEIXAS, C.D.S.; SOARES, R.M.; HENNING, A.A.; YORINORI, J.T.; FERREIRA, L.P.; SILVA, J.F.V. Doenças da soja. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Ceres, p.657-675, 2016.

HENNING, A.A. **Manejo de doenças da soja (*Glycine max* L. Merrill)**. Informativo Abrates, v.19, n.3, p.9-12, 2009.

IGANCI, J.R.V.; BOBROWSKI, V.L.; HEIDEN, G.; STEIN, V.C.; ROCHA, B.H.G. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies de boldo sobre a germinação e índice mitótico de *Allium cepa* L. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.1, p.79-82, 2006.

LORENZETTI, E.; STANGARLIN, J.R.; TREIB, E.L.; HELING, A.L.; COLTRORONCATO, 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**, Nigéria, v.11, n.36, p.3412-3417, 2016.

MATU, E.N.; STADEN, V.J. Antibacterial and anti-inflammatory activities of some plants used for medicinal purposes in Kenya. **Journal of Ethnopharmacology**, United Kingdom, v.87, p.35-41, 2003.

MAURO, C.; SILVA, C.P.; MISSIMA, J.; OHNUKI, T.; RINALDI, R.B.; FROTA, M. Estudo anatômico comparado de órgãos vegetativos de boldo miúdo, *Plectranthus ornatos* Codd. e malvariço, *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. – Lamiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v.18, n.4, p.608-613, 2008.

MENGISTU, A.; ARELLI, P.A.; BOND, J.P.; SHANNON, G.J.; WRATHER, A.J.; RUPE, J.B.; CHEN, P.; LITTLE, C.R.; CANADAY, C.H.; NEWMAN, M.A., PANTALONE, V.R. Evaluation of soybean genotypes for resistance to charcoal rot. **Plant Management Network**, Saint Paul, 2011. Disponível em: <<https://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/research/2011/charcoal/>>. Acesso em: 21 dez. 2016.

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 Mediciniais**, Botucatu, v.10, n.3, p.57-60, 2008.

SIQUEIRA JÚNIOR, C.L.; MORAES, T.C.; MARTINS, J.A.B.; FREIRE, M.G.M. Controle da antracnose em mamão por extratos vegetais. **Ciências Biológicas e da Saúde**, v.1, n.1, p.99-105, 2011.

VICENTE, I.F.A. LOPES, A.C.P.; KRANN, R.; CEOLIN, T. *Plectranthus barbatus*: uma revisão bibliográfica. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS, 22., 2013, Pelotas. Pelotas. **Anais...** Pelotas: UFPEL, 2013.