

# Controle alternativo de *Colletotrichum musae* com extrato de mil folhas

## Alternative control of *Colletotrichum musae* with extract of yarrow

DOI 10.5935/2446-4775.20170025

Figueiredo, Yasmim F.<sup>1\*</sup>; Altoé, Luciana S.<sup>2</sup>; Gonçalves, Lucas C.<sup>3</sup>; Rodriguez, Gabriel A. A.<sup>4</sup>; Silva, Marcelo B.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Lavras, Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, Departamento de Fitopatologia, Lavras, CEP: 37200-000, MG, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade Federal de Viçosa, Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Estrutural, Departamento de Biologia Geral, Viçosa, CEP: 36570-900, MG, Brasil.

<sup>3</sup>Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo, Departamento de Ciências Agrárias e Biológica, Laboratório de Fitopatologia, São Mateus, CEP: 29932-540, ES, Brasil.

<sup>4</sup>Empresa Usina Magdalena S.A., Departamento de Manejo Integrado de Plagas, Laboratório de Microbiologia, Escuintla, Guatemala.

\*Correspondência: [yasmim\\_f@hotmail.com](mailto:yasmim_f@hotmail.com)

### Resumo

Extratos de planta de mil folhas (*Achillea millefolium* L.), podem auxiliar no controle de doenças de pós-colheita da banana (*Musa* sp.), como a antracnose (*Colletotrichum musae* B. & M.A.C.). O objetivo deste trabalho foi avaliar a inibição de crescimento do fungo por frações dos extratos de distintas partes da planta em diferentes meses de colheita. O material colhido foi separado, secado e triturado, realizando-se a extração etanólica pela técnica de maceração. Após a obtenção do extrato, este foi seco, dissolvido em Dimetilsulfóxido e vertido em meio BDA fundente. Os tratamentos foram feitos em triplicata, sendo avaliado o crescimento radial do fungo após 5 dias em BOD (25°C). Ocorreu a redução de crescimento do fungo, quando comparadas com a testemunha, obtendo os melhores resultados nas frações mais polares e as partes mais ativas foram as flores. A constância da atividade, observada nas diferentes partes da planta, é um indicativo do potencial do extrato da planta no controle da antracnose da banana.

**Palavras-chave:** Controle alternativo. Inibição micelial. Pós-colheita. Banana.

### Abstract

Plant extracts such as yarrow (*Achillea millefolium* L.), can help control of post-harvest diseases in Banana (*Musa* sp.), such as anthracnose (*Colletotrichum musae* B. & M.A.C.). The objective of this study was to evaluate the inhibition of fungal growth by fractions of different parts of the plant extracts in different months of harvest. The material collected was, separated, dried, crushed and held the ethanol extraction by maceration technique. After obtaining the extract, this was dried, dissolved in dimethylsulfoxide and poured

on PDA medium flux. Treatments performed were in triplicate and evaluated the radial growth of the fungus after 5 days under growth chamber (25 ° C). There was a growth reduction of the fungus, compared to the control, obtaining the best results in the polar fractions and the most active parts were the flowers. The constancy of the activity observed in different parts of the plant is indicative of the plant extract potential in controlling anthracnose of banana.

**Keywords:** Alternative control. Mycelial inhibition. Post-harvest. Banana.

---

## Introdução

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas com 5,3 % da produção, apenas atrás da China (29,4 %) e Índia (9,4 %). A produção de frutas é absorvida principalmente pelo mercado interno (SEAB, 2015). O cultivo das frutas envolve principalmente: banana, maçã, uva, melão e frutas tropicais, sendo a banana a fruta mais cultivada e plantada no território brasileiro (SEAB, 2015), e esta produção tende a aumentar com o aumento de produtividade das áreas e da demanda. A produção de 2014-2015 foi de 7,2 milhões de toneladas e a previsão para a safra 2023/24 será de 7,8 milhões de toneladas (FAO, 2015).

A banana é a fruta mais produzida e consumida no mundo, apresenta assim grande importância no mercado internacional de frutas (SEAB, 2015). A produção de banana é a mais difundida pelo Brasil em relação às outras frutas, pois há plantações em todos os estados, e a área plantada tende a aumentar 2,3% até 2023 (MAPA, 2013). No entanto, a conservação dos frutos na pós-colheita é o grande desafio da produção nacional, existem diferentes fatores biótico e abiótico que diminuem a qualidade do fruto, trazendo prejuízos para a venda (Lichtemberg e Lichtemberg, 2011).

A baixa qualidade da banana é causada principalmente durante o período de pós-colheita, por práticas de manejo inadequadas e a atuação de microrganismos, que aceleram o amadurecimento dos frutos e aumentam a porcentagem de perda do fruto (Lichtemberg e Lichtemberg, 2011). A antracnose, causada por *Colletotrichum musae* (Berk e Cutis) von Arx, destaca-se como uma das principais doenças de pós-colheita da banana, causando até 90% de perda de frutos (Tatagiba et al., 2002).

O uso de fungicidas é um dos tratamentos mais utilizados em pós-colheita de bananas (Negreiros et al., 2013). O uso intensivo e indiscriminado de defensivos agrícolas tem causado diversos problemas e um deles é a resistência de fitopatógenos a certos defensivos, fazendo com que a exploração da atividade biológica de compostos de plantas pode constituir uma opção para reduzir o uso de defensivos (Franzener et al., 2003). Sendo os extratos vegetais eficientes para serem usados como alternativas de controle de fitopatogênicos (Silva et al., 2012).

*Achillea millefolium* L., tem como nome comum mil-folhas, é uma espécie pertencente à família *Asteraceae*, originária da Europa e amplamente cultivada em todo o Brasil. Planta perene, herbácea, rizomatosa, empregada na medicina caseira como anti-inflamatória, cicatrizante e internamente contra infecção das vias respiratórias, por ser uma planta aromática (Souza et al., 2005). Já foi comprovada a potencialidade de inibição fungicida desta espécie por meio de inibição de crescimento micelial do *C. musae* com extrato etanólico de *A. millefolium*, no qual foram encontrados compostos fenólicos, taninos, flavonóides e cumarinas (Peres et al., 2009).

O objetivo deste trabalho foi conhecer a relação entre a inibição de crescimento de *Colletotrichum musae* por frações dos extratos de diferentes partes da planta de diferentes meses de colheita de *A. Millefolium*.

## Material e Métodos

As partes aéreas das plantas (flores, folhas e ramos) foram coletadas mensalmente, de novembro de 2011 a julho de 2012, em uma área de cultivo orgânico da Escola Nova Esperança, no município de São Mateus – ES. Todos os materiais vegetais foram coletados ao amanhecer e, após a coleta, cada parte da planta foi lavada utilizando-se água, secagem em estufa, com temperatura aproximada de 40°C e, posteriormente, triturada com o auxílio de um moinho de facas (Marconi® - Modelo 340). As amostras moídas foram armazenadas em saco plástico sobre refrigeração e ao abrigo de luz. Os reagentes utilizados foram de grau analítico (Merck): etanol e hexano. A água utilizada no preparo das soluções e limpeza das vidrarias foi de origem de filtro de osmose reversa (Permutation®). Foram obtidos 27 extratos etanólicos a partir da dissolução de cada amostra de 50 g do pulverizado em 200 mL de etanol PA, utilizando a técnica de maceração. Posteriormente, fez-se a filtração a vácuo e o extrato bruto da planta foi concentrado eliminando o solvente com o uso de um evaporador rotativo, em temperatura inferior a 40°C. O extrato concentrado obtido após a passagem pelo evaporador rotativo foi redissolvido em 5 mL de etanol para aplicação em placas cromatográficas. O fracionamento dos extratos foi feito em cromatografia de Camada Delgada conforme descritos por Silveira e Jamal (2002), para tanto, foram depositadas gotas dos diferentes extratos obtidos na extremidade da placa revestida por camada de sílica (Sílica gel 60G Merck) ativadas a 110 °C. Após o período de corrida cada extrato as diferentes bandas formadas foram identificadas em cinco diferentes frações e separadas conforme sua polaridade de 1 a 5 (1 mais apolar e 5 fases estacionárias, polar). Para o teste de inibição de crescimento foi utilizado isolado do fungo *Colletotrichum musae* obtido diretamente de frutos da banana doentes da região e mantidos em tubos de ensaio.

Para obtenção dos discos de micélio, sete dias antes dos ensaios, o fungo era replicado para placas de Petri, contendo antibióticos e colocados para crescer em incubadora a 25°C. Após o período de crescimento, discos de micélio da extremidade da placa eram retirados e colocados no centro das plantas com os extratos a serem avaliados. Cada fração obtida a partir do extrato etanólico de *Achillea millefolium* foi diluída em 150 µL de Dimetilsulfóxido (DMSO). O extrato diluído em DMSO foi adicionado imediatamente em Erlemeyer contendo 30 mL de Batata – Dextrose – Ágar (BDA) fundente, homogeneizado e vertido em três placas de Petri estéreis. Após resfriamento e solidificação do meio, um disco de 5 mm de micélio com sete dias de repicado foi colocado no centro de cada placa de Petri. Após cinco dias, o crescimento radial do fungo foi avaliado com o uso de paquímetro digital, medindo-se o diâmetro da colônia formada em dois sentidos ortogonais. Os dados foram convertidos para porcentagem, tabulados e analisados estatisticamente e as médias comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p=0,05$ ).

## Resultados e Discussão

Foi observada variação na atividade dos extratos conforme sua origem (folha, ramo ou flor) e mês em que foi realizada a coleta da planta (novembro, dezembro, janeiro, fevereiro, março, abril, maio, junho e julho) ou fração (1=mais apolar e 5= fase estacionária, polar), por meio das diferenças estatísticas, na qual as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ( $p=0,05$ ), conforme demonstrado na **TABELA 1**.

**TABELA 1.** Análise estatística da porcentagem de inibição de crescimento radial de colônias de *C. musae* dos melhores resultados, tendo as médias comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p=0,05$ ).

Tratamento	Porcentagem de inibição
F1 Flor de Novembro	69,19 a
F5 Flor de Julho	50,00 b
F5 Flor de Dezembro	49,71 b
F5 Flor de Junho	49,26 b
F1 Flor de Janeiro	47,14 b
F5 Ramo de Novembro	44,06 b
F5 Ramo de Fevereiro	43,93 b
F3 Ramo de Março	41,85 b
F5 Folha de Julho	41,79 b
F5 Folha de Abril	41,79 b
F4 Folha de Junho	41,79 b
F5 Flor de Fevereiro	39,41 b
F1 Flor de Abril	35,69 c
F5 Ramo de Abril	32,93 c
F3 Folha de Dezembro	25,62 c
F2 Folha de Fevereiro	22,24 c
F3 Folha de Janeiro	20,33 c

Legenda: F1 = fração 1 (mais apolar); F2 = fração 2; F3 = fração 3; F4 = fração 4; F5 = fração 5 (mais polar) dos extratos de mil folhas dos meses e local da planta descritos. Números seguidos de letras conforme diferenças estatísticas das médias comparadas letras diferentes indicam a diferença entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.

Os melhores resultados, normalmente, foram observados com a fração 5, que indica um comportamento bastante polar do princípio ativo. No entanto, a inibição mais significativa ocorreu na fração 1, como mostra a **TABELA 1**. Considerando os cinco melhores resultados, os mesmos foram obtidos normalmente de flor ou folhas, em concordância com estudos publicados por Peres et al. (2009). De maneira geral os extratos obtidos dos ramos apresentaram resultados inferiores ao demais, mas em extratos de outras plantas, este efeito inibitório pode não sofrer alteração como demonstrado por Bezerra-Silva et al. (2010).

Os resultados obtidos nestes ensaios são coerentes com os resultados observados na literatura (Silva, 2006 e 2008), as frações que obtiveram maior atividade foram obtidas na fase estacionária e na fração 4. Normalmente a atividade antimicrobiana de plantas medicinais está associada aos metabolismos secundários, e conseqüentemente possíveis de serem influenciados pelo ambiente. Esta variação pode ser constatada pelo fato dos extratos da fração 1, coletados no mês de novembro, terem obtidos os melhores

resultados. No entanto, não se pode afirmar essa variação, devido aos valores posteriores terem sido de frações diferentes.

O fato de ser obtida fração ativa nas folhas é interessante, quando comparado às flores, não são produzidas o ano todo, e quando são, a quantidade de material produzido é menor, se considerado às flores.

Um aspecto positivo e promissor deste trabalho é que, apesar dos testes terem sido feitos com frações dos extratos brutos, proporcionando concentrações dos extratos não superiores a 10 ppm no meio de cultura, foi possível inibir quase 70% do crescimento do fungo. Considerando que muitos produtos no mercado atuam em concentrações de 1000 ppm, a expectativa é que, com a obtenção de volume maior de extrato nas frações polares, permitirá um nível de controle satisfatório do patógeno. Com isso, este trabalho apontou uma linha bem definida a ser desenvolvida, para obtenção, em maior quantidade da fração ativa do extrato, utilizando-se de extratores com maior grau de polaridade. A partir deste ponto, será possível fazer a curva de inibição do extrato em função da concentração e a caracterização química do mesmo.

## Conclusão

O extrato de diversas partes da planta de mil folhas realiza a inibição do crescimento do fungo de pós-colheita *Colletotrichum musae* e dos extratos utilizados, o que teve maior potencial de inibição foi o extrato proveniente da fração 1 de flor de mil folhas coletado no mês de novembro.

## Referências

Bezerra-Silva GCD, Vendramim JD, Silva MA, Dias CTS. Efeito de extratos orgânicos de meliaceae sobre *Bemisia tabaci* (gennadius) biótipo B em tomateiro. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo. jul./set., 2010; 77(3):477-485.

FAO 2015 - Food and Agriculture Organization of the United Nations. OECD-FAO PERSPECTIVAS AGRÍCOLAS 2015-2024. Disponível em: [\[Link\]](#). [Acesso em, 10 ago. 2016]. E-ISBN 978-92-5-108814-2 (PDF). [\[CrossRef\]](#)

Franzener G, Stangarlin JR, Schwan-Estrada KRF, Cruz MES. Fungitoxic activity and resistance induction in wheat plants against *Bipolaris sorokiniana* by *Artemisia camphorata*. **Acta Scientiarum-Agronomy**. 2003; 25(2): 503-507.

Lichtemberg LA, Lichtemberg PSF. Avanços na bananicultura brasileira. **Rev. Bras. Frutic.** Jaboticabal. 2011; 33(spe1): 29-36. [Acesso em, 05 de ago. 2016]. Disponível em: [\[Link\]](#). ISSN 0100-2945. [\[CrossRef\]](#)

MAPA 2013 - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil. **Projeções do Agronegócio: Brasil 2012/2013 a 2022/2023**. Assessoria de Gestão Estratégica. Brasília: Mapa/ACS, 2013. 96p.

Negreiros RJZ, Salomão LCC, Pereira OL, Cecon PL, Siqueira DL. Controle da antracnose na pós-colheita de bananas - 'prata' com produtos alternativos aos agrotóxicos convencionais. **Rev. Bras. Frutic.** Jaboticabal. 2013; 35(1): 51-58. ISSN 0100-2945. [\[CrossRef\]](#)

Peres RL, Moraes SCS, Carvalho CA, Nascimento PC, et al. *Achillea millefolium* – Asteraceae: estudo fitoquímico, espectrofotométrico e da atividade antifúngica (*Colletotrichum musae*). **Rev. Eletr. Far.**, Goiânia. 2009; 6(3): 81-93. ISSN: 1808-0804. [[CrossRef](#)]

SEAB 2015 - Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento – SEAB. Fruticultura: Maio de 2015. Disponível em: [[Link](#)]. [Acesso em, 18 ago. 2016].

Silva MB, Nicoli A, Costa ASV, Brasileiro BG, et al. Ação antimicrobiana de extratos de plantas medicinais sobre espécies fitopatogênicas de fungos do gênero *Colletotrichum*. **Rev. Bras. Plan. Medic.** Botucatu. 2008; 10(3): 57-60. ISSN: 1983-084X. [[link](#)].

Silva MB, Silva CA, Viana LAS, Brasileiro BG, Jamal CM. Potential use of *Plectrants barbatus* ethanolic extract to control phytopathogenic fungi. **Rev. Bras. Plan. Medic.** Botucatu. 2006; 8(nº esp.): 78-79. ISSN: 1983-084X. [[Link](#)]

Silva JL, Teixeira RNV, Santos DIP, Pessoa JO. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o crescimento *in vitro* de fitopatógenos. **Revista Verde**, Mossoró. 2012; 7(1): 80 – 86. ISSN: 1981-8203.

Silveira D, Jamal CM. Caderno Didático Aula + (Química Orgânica Experimental). Governador Valadares: Editora UNIVALE, 2002.

Souza TM, Santos LE, Moreira RRD, Rangel VLBI. Avaliação da atividade fotoprotetora de *Achillea millefolium* L. (Asteraceae). **Rev. Bras. Farmacogn.** João Pessoa. 2015; 15(1): 36-38 Disponível em: [[Link](#)]. [Acesso em, 20 jul. 2016]. ISSN: 1981-528X. [[CrossRef](#)]

Tatagiba JS, Liberato JR, Zambolim L, Ventura JA, Costa H. Controle e condições climáticas favoráveis à antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) do mamoeiro. **Fitopatol. Bras.** 2002; 27: 186-192. ISSN 1678-4677. [[CrossRef](#)]

---

**Conflito de interesses:** O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

**Histórico do artigo:** Submissão: 20/09/2016 | Aceite: 07/06/2017 | Publicação: 09/01/2018

**Como citar este artigo:** Figueiredo YF, Altoé LS, Gonçalves LC, Rodriguez GAA, Silva MB. Controle alternativo de *Colletotrichum musae* com extrato de mil folhas. **Revista Fitos**. Rio de Janeiro. 2017. v.11, n.2. p. 167-172. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/437>>. Acesso em: 11 maio 2017.

**Licença CC BY 4.0:** Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.

---