

Controle da deterioração fúngica em morango

Control of fungal decay in strawberries

Ana Rita Zulim Leite

anazulim@hotmail.com

Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Campo Mourão, Paraná,
Brasil

Amanda Correia Gardenal

amanda_gardenal@hotmail.com

Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Campo Mourão, Paraná,
Brasil

Iasmim Pereira Moraes

iasmim.pereira.89@hotmail.com

Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Campo Mourão, Paraná,
Brasil

João Carlos Palazzo Mello

mello@uem.br

Universidade Estadual de Maringá,
Maringá, Paraná, Brasil

Leila Larisa Medeiros Marques

leilamarques@utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Campo Mourão, Paraná,
Brasil

Márcia Regina Ferreira Geraldo

Perdoncini

mperdoncini@gmail.com

Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Campo Mourão, Paraná,
Brasil

RESUMO

O fungo *Botrytis cinerea* é o principal patógeno necrotrófico, responsável por infectar parte dos vegetais e cultivos de frutas, principalmente no período pós-colheita. A infecção inicia-se na flor e desenvolve-se através de feridas presentes na superfície do fruto, causando perda do valor econômico. Além disso, este patógeno é geneticamente variável, adquirindo resistência aos produtos químicos utilizados para o controle. Assim, a fim de prevenir a contaminação pelo *B. cinerea* técnicas como aplicação de compostos naturais são empregadas. Os extratos brutos das plantas Barbatimão, Sibipiruna, Croton e Juçara oferecem atividades importantes em diversas áreas, como também apresentam importantes substâncias naturais farmacologicamente ativas. Dessa maneira, o objetivo deste trabalho foi avaliar a ação desses extratos, analisando a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração fungicida mínima (CFM) frente ao fungo *Botrytis cinerea*. As análises foram efetuadas de acordo com a norma M38 A da National Committee for Clinical Laboratory Standart. O extrato bruto do Barbatimão apresentou como CIM e CFM para a ação de inibição ao *B. cinerea*, respectivamente, os valores de 0,125 g.mL⁻¹ e 12,5 %, enquanto a Sibipiruna obteve tais valores igual a 0,0156 g.mL⁻¹ e 25 %. Além de que o extrato bruto de Croton apresentou inibição ao *B. cinerea* com os valores de CIM e CFM respectivamente iguais a 0,312 g.mL⁻¹ e 25 %, enquanto a Juçara resultou em tais valores iguais a 0,312 g.mL⁻¹ e 3,125 %. Logo, testes para utilização desses extratos para o controle do fungo tornam-se importante para atenuar a contaminação de produtos.

PALAVRAS-CHAVE: *Botrytis cinerea*. Patógeno. Contaminação. Extratos.

ABSTRACT

The fungus *Botrytis cinerea* is the main necrotrophic pathogen, responsible for infecting part of the plants and fruit crops, mainly in the post-harvest period. The infection begins in the flower and develops through wounds present on the surface of the fruit, causing loss of economic value. In addition, this pathogen is genetically variable, acquiring resistance to the chemicals used for the control. Thus, in order to prevent contamination by *B. cinerea* techniques such as application of natural compounds used for control. The crude extracts of the Barbatimão, Sibipiruna, Croton and Juçara plants offer important activities in several areas, as well as important pharmacologically active natural substances. In this way, the objective of this work was to evaluate the action of these extracts, analyzing the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum fungicidal concentration (MFC) against *Botrytis cinerea* fungus. The analyzes were performed according to the M38 A standard of the National Committee for Clinical Laboratory Standart. The crude extract of Barbatimão presented as MIC and MFC for the action of inhibition to *B. cinerea*, respectively, the values of 0.125 g.mL⁻¹ and 12.5 %, while Sibipiruna obtained values equal to 0.0156 g.mL⁻¹ and 25 %. In addition, Croton crude extract showed inhibition to *B. cinerea* with MIC and MFC values respectively equal to 0.312 g.mL⁻¹ and 25 %, whereas Juçara resulted in such values equal to 0.312 g.mL⁻¹ and 3.125 %. Therefore, tests to use these extracts for fungus control become important in mitigating the contamination of products.

Recebido: 31 ago 2018.

Aprovado: 04 out 2018.

Direito autoral:

Este trabalho está licenciado sob os
termos da Licença Creative
Commons-Atribuição 4.0
Internacional.



KEYWORDS: *Botrytis cinerea*. Pathogen. Contamination. Extracts.

INTRODUÇÃO

O fungo *Botrytis cinerea*, é o principal patógeno necrotrófico que potencializa danos aos tecidos das plantas, infectando mais de 200 espécies vegetais. A contaminação pode ocorrer antes ou após a colheita, em estufa, durante o armazenamento ou durante o transporte de produtos frescos (HERRERA-ROMERO et al., 2017). Um exemplo da ação danosa deste fungo é na produção do morango, que por possuir atividades metabólicas altas, como também elevado teor de umidade, açúcares e ácidos, são suscetíveis à degradação por este fungo (JIA et al., 2016).

O *B. cinerea* pode sobreviver saprofiticamente ou por escleródio ou ainda por micélio dormente e assim a dispersão dos conídios pelo ar e pela água afeta as culturas susceptíveis (PALARETTI, 2018). Além disso, este patógeno é geneticamente variável, logo adquire resistência aos produtos químicos utilizados para o controle (SANSONE et al., 2018). Assim, técnicas como aplicação de compostos naturais e tratamentos físicos são utilizadas com o intuito de prevenir a contaminação (FREITAS et al., 2015).

Stryphnodendron adstringens Beth (Barbatimão) é uma árvore de estatura média presente no litoral e no cerrado brasileiro, tendo como constituintes químicos os taninos, coloração vermelha, as resinas, óleos essenciais e mucilagens. Os taninos são substâncias naturais que possuem a composição polifenólica produzida pelo metabolismo secundário e apresentam ação contra insetos (FONSECA et al., 2018).

Poincianella pluviosa (Sibipiruna), faz parte das plantas febaceas, sendo uma árvore ornamental de grande porte cultivada principalmente no centro sul do Brasil (KAYANO, 2011), cultivada em clima tropical, apresenta folhas pequenas e caducas semelhantes à folhagem do Pau-Brasil (CARVALHO, 2012). *P. pluviosa* possui grande fonte de metabólitos bioativos, como também biflavonoides, terpenos, esteroides e entre outros na quais auxiliam em atividade antimicrobiana, anti-inflamatório, antirreumática e analgésica (KAYANO, 2011).

O gênero *Croton* pertence à família *Euphorbiaceae*, representado por árvores, arbustos e ervas, sendo que no Brasil apresenta-se difundindo pela Mata Atlântica do estado de Pernambuco. Este gênero é promissor por ser uma substância natural farmacologicamente ativa, possuindo substâncias como flavonoides, alcaloides, terpenoides e compostos fenólicos que possuem atividade antimicrobiana, antioxidante e antiviral (ARRAIS et al., 2014).

A *Euterpe edulis* (Juçara) é uma palmeira de caule ereto, cilíndrico, de estatura alta (GARBIN, 2011) sendo natural da Mata Tropical Atlântica do Brasil, esta apresenta frutos esféricos carnosos com coloração roxa negra quando maduros, por possuir antocianinas como pigmento, além de apresentar ácidos fenólicos e flavonoides (FAVARO, 2018).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação antimicrobiana dos extratos brutos de Barbatimão, Sibipiruna, Croton e Juçara frente ao fungo *Botrytis*

cinerea através da análise de concentração inibitória mínima (CIM) e concentração fungicida mínima (CFM).

METODOLOGIA

MICRO-ORGANISMO

O fungo *B. cinerea* CCT 1251 da coleção André Toselo.

EXTRATOS

Foram utilizados os extratos brutos de *Poincianella pluviosa* (Sibipiruna), *Stryphnodendron adstringens* (Barbatimão), *Euterpe edulis* (Juçara) e *Croton Floribundus* (Croton). Cascas de *P. pluviosa* foram coletadas em Maringá, Paraná, Brasil e cascas do caule de *S. adstringens* foram coletados em São Jerônimo da Serra, Paraná, Brasil. Através da metodologia proposta por Bueno et al. (2014) e Ishida et al. (2006) foram obtidos os extratos *P. pluviosa* e *S. adstringens*. E de acordo com a metodologia proposta por Teixeira et al. (2008) obteve os extratos brutos da *Euterpe edulis* (Juçara) e *Croton Floribundus* (Croton).

MEIOS DE CULTURA

Foram utilizados os meios RPMI-1640 para a concentração inibitória mínima e ágar DG-18 para produção de conídios e concentração fungicida mínima.

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) E CONCENTRAÇÃO FUNGICIDA MÍNIMA (CFM).

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada de acordo com o documento da CLSI, norma M38 a preconizada pela National Committee for Clinical Laboratory Standart (NCCLS). A concentração fungicida mínima (CFM) foi determinada após posterior inoculação de 10 µL de cada poço negativo em CIM no ágar DG-18 e incubação á 25 °C por 24-48 horas. Logo, a CFM foi a menor concentração onde não houve o crescimento do fungo.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Após a incubação foi analisado cada poço visualmente á olho nu e através da leitura em microscópio estereoscópio cujos resultados estão expressos na tabela 1. Dessa maneira pode-se observar, utilizando os controles negativo e positivo, que o extrato bruto da Juçara apresentou a melhor concentração fungicida, impedindo o crescimento do fungo com concentração igual a 3,125 %. O extrato bruto da sibipiruna obteve o melhor resultado de concentração inibitória mínima, igual 0,0156 g.mL⁻¹, capaz de inibir o crescimento do inoculo.

Tabela 1 – Resultado da CIM e da CFM dos extratos brutos barbatimão, sibipiruna, croton e Juçara aplicados no fungo *Botrytis cinerea*.

	CIM*	CFM**
Barbatimão	0,125 g.mL ⁻¹	12,5%
Sibipiruna	0,0156 g.mL ⁻¹	25%
Croton	0,0312 g.mL ⁻¹	25%
Juçara	0,0312 g.mL ⁻¹	3,125%

Fonte: Autoria própria (2018).

*(CIM) concentração inibitória mínima; ** (CFM) concentração fungicida mínima

Os estudos dos extratos da *P. pluviosa*, sibipiruna, estão relacionados com a atividade antifúngica em espécies do mesmo gênero, nas quais apresentam atividade antimicrobiana e tem sido utilizado em tratamentos antifúngicos, anti-inflamatórios e analgésicos; apresentam também atividade contra o *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*, além de inibir o crescimento de outras bactérias Gram-positivas e Gram-negativas pelo método de concentração inibitória mínima (CIM) (ZANIN et al., 2012).

Dentre os constituintes químicos presentes no barbatimão, os taninos apresentam-se em maioria, entre 25% a 30%, e a partir das complexações com proteínas, esse elemento possui atividade fungicida e bactericida. O extrato da casca dessa planta reduziu a incidência do fungo *Fusarium subglutinans* em abacaxi (RICARDO, 2010).

Espécies do gênero *Croton* possui atividade antimicrobiana, com ação sobre as cepas de *Neisseria*, *Nocardia*, *Brucella* e de *Streptococcus*. Como também se destacam pela atividade contra microrganismos gram-positivos, destacando-se o *Staphylococcus aureus* (ARRAIS et al., 2014).

Os extratos das raízes da Euterpe precatória apresentam atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* (GARBIN, 2011). Os frutos por apresentarem compostos fenólicos, como as antocianinas, os flavonóis, as catequinas e os taninos, possuem atividade anti-inflamatória, antialérgica, antitrombótica e antimicrobiana (SAAVEDRA, 2008).

CONCLUSÕES

Os extratos brutos de barbatimão, sibipiruna, croton e juçara apresentaram os melhores efeitos inibitórios contra o fungo *B. cinerea*, sendo que a juçara apresentou o melhor efeito fungicida e o extrato da sibipiruna demonstrou efeito inibitório satisfatório. Estudos futuros são necessários para a verificação no controle deste fungo diretamente em frutos.

REFERÊNCIAS

- ARRAIS, L. G. et al. Atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos da raiz, caule e folhas de *Croton pulegioides* Baill. (Zabelê). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, n. 2, p. 316-322, 2014.
- BUENO, F. G. et al. Hydrolyzable tannins from hydroalcoholic extract from *Poincianella pluviosa* stem bark and its wound-healing properties: Phytochemical



investigations and influence on in vitro cell physiology of human keratinocytes and dermal fibroblasts. **Fitoterapia**, v. 99, p. 252–260, 2014.

CARVALHO, B. A. **Estudo químico e avaliação das propriedades biológicas de folhas e flores de *Caesalpinia pluviosa* var. *peltophoroides***. 90 f. Dissertação (mestrado) em Química, Universidade Federal de Alfenas. Alfenas-MG, 2012.

FAVARO, M. M. A. **Exploração de dados multivariados de fontes e extratos de antocianinas utilizando análise de componentes principais e método do vizinho mais próximo**. 2012. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, 2012. Disponível em:

<http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/250159/1/Favaro_MarthaMariaAndreotti_D.pdf>. Acesso em: 09 jul. 2018.

FONSECA, J. et al. Efeito de extratos metanólicos de *Stryphnodendron adstringens* (MART) Coville na Alimentação e Reprodução de *Plutella xylostella* L. **Comunicaciones Reports Comunicações**, v.43, n.3, 2018.

FREITAS, P. M. et al. Postharvest treatment of table grapes with ultraviolet-C and chitosan coating preserves quality and increases stilbene content. **Postharvest Biology and Technology**, v. 105, p. 51-57, 2015.

GARBIN, V. P. **Análise da atividade antimicrobiana dos extratos dos frutos, óleos das sementes e fungos isolados da Palmeira Juçara (*Euterpe Edulis* Martius 1824)**. 2011. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Microbiologia, Patologia e Parasitologia, Universidade Federal do Paraná, 2005. Disponível em:

<<https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/26198/versao%20final%20da%20vivien%20patricia%20garbin.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em 10 jul. 2018.

HERRERA-ROMERO, I. et al. Postharvest evaluation of natural coatings and antifungal agents to control *Botrytis cinerea* in Rosa sp. **Phytoparasitica**, v. 45, n. 1, p. 9-20, 2017.

ISHIDA, K. et al. Influence of tannins from *Stryphnodendron adstringens* on growth and virulence factors of *Candida albicans*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 58, n. 5, p. 942–949, 2006.

JIA, H. et al. Overexpressions of polyphenol oxidase gene in strawberry fruit delays the fungus infection process. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 34, n.3, p. 592-606, 2016.

KAYANO, A. C. A. V. **Avaliação in vivo e in vitro da atividade antimalárica de *Caesalpinia pluviosa* e análise da fração ativa**. 116 f. Dissertação (mestrado) Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2011.

PALARETTI, V. V. **Pressões hiperbáricas no controle de mofo cinzento e de mancha de alternaria na pós-colheita de tomate Débora**. 102 f. Tese (doutorado) Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal-SP, 2018.

RICARDO, B. C. **Avaliação da atividade antifúngica in vitro de extratos vegetais sobre *Fusarium solani*, causador de fitopatologias em culturas de batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.)**. 49 f. Monografia em Farmácia, Universidade Estadual da Paraíba. Campina Grande-PB, 2010.



SAAVEDRA, T. A. **Constituintes polifenólicos e propriedades antioxidantes da polpa do fruto da palmeira Juçara (*Euterpe edulis*)**. 2008. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, Universidade Estadual de Campinas, 2008. Disponível em:

<http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/254464/1/ArceSaavedra_Thony_M.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2018.

SANSONE, G. et al. Evaluation of *Rhodosporidium fluviale* as biocontrol agent against *Botrytis cinerea* on apple fruit. **Letters in applied microbiology**, v. 66, n. 5, p. 455-461, 2018.

TEIXEIRA, L. N.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, v. 55, n. 4, p. 297-304, 2008.

ZANIN, J. L. B. et al. The genus *Caesalpinia* L. (*Caesalpinaceae*): phytochemical and pharmacological characteristics. **Molecules**, v. 17, p.7887-7902, 2012.