

13871 - Atividade biológica de aveloz (*Euphorbia tirucalli*), boldo (*Pneumus boldus*) e cânfora (*Cinnamomun camphora*) sobre *Alternaria* sp e *Fusarium* sp.

*Biological activity of aveloz (*Euphorbia tirucalli*), boldo (*Pneumus boldus*) and cânfora (*Cinnamomun camphora*) on *Alternaria* sp and *Fusarium* sp.*

CAMATTI-SARTORI, Valdirene¹; BIONDO, Fabricia¹; PANSERA, Marcia¹;
RIBEIRO, Rute T. S¹.

¹ Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul/RS – Brasil, vcsartor@ucs.br,
fabribiondo@gmail.com, marcia.pansera@ucs.br, rtsribei@ucs.br

Resumo

Na agricultura convencional, a aplicação de fungicidas químicos para garantir a sustentabilidade da atividade agrícola, é a única alternativa para o controle de doenças. Esta forma de controle apresenta impacto negativo sobre o ambiente e, o desenvolvimento de novas formas de controle tem recebido atenção de produtores e pesquisadores. Este trabalho teve como objetivo avaliar *in vitro* o potencial de inibição dos extratos de *Euphorbia tirucalli*, *Pneumus boldus* e *Cinnamomum camphora*, sobre o desenvolvimento dos fitopatógenos *Alternaria* sp. e *Fusarium* sp. e identificar seus componentes fitoquímicos. O extrato de *E. tirucalli* apresentou alcalóides, *P. boldus* apresentou alcalóides e flavonóides e *C. camphora*, cafeína e flavonóides. O extrato hidroetanólico das três plantas mostrou-se eficiente no controle dos fitopatógenos, inibindo 90% seu desenvolvimento, a partir da concentração 10%.

Palavras-chave: extratos botânicos; inibição de crescimento; composição química

Abstract: *In conventional agriculture, the application of chemical fungicides to ensure the sustainability of agriculture, is the only alternative for the control of diseases. This form of control has negative impact on the environment and the development of new forms of control has received attention of producers and researchers. This work aimed to evaluate the in vitro inhibition potential of extracts of *Euphorbia tirucalli*, *Pneumus boldus* and *Cinnamomum camphora* on the development of plant pathogens *Alternaria* sp. and *Fusarium* sp. and identify their phytochemical constituents. The extract of *E. tirucalli* showed alkaloids, *P. boldus* presented alkaloids and flavonoids and *C. camphor*, caffeine and flavonoids. The hydroethanolic extract of the three plants was effective in the control of plant pathogens, inhibiting its development 90%, from 10% concentration.*

Keywords: *botanical extracts; growth inhibition; chemical composition*

Introdução

Ao longo dos anos, os agrotóxicos têm sido indiscriminadamente utilizados para controlar doenças, pragas e plantas invasoras na agricultura. Esta utilização tem promovido vários problemas como a contaminação dos alimentos, do solo, da água e dos animais e, de uma forma geral da cadeia alimentar. Porém, atualmente a sociedade vem se posicionando contra este sistema de produção agrícola, exigindo alimentos e ambiente de qualidade. A utilização de moléculas químicas de origem natural pode ser uma alternativa promissora, como os alcalóides que são encontrados em todos os vegetais e possuem varias funções como repelência a herbívoros, antiviral e antitumoral entre outras (Santos, 2000). Os flavonóides são metabólitos secundários abundantes nas plantas e suas funções são proteção, antioxidante, alelopatia e inibição de enzimas. Os taninos têm ação bactericida e fungicida (Santos & Mello, 1999). Este trabalho teve como objetivo avaliar *in vitro* o efeito dos extratos aquoso, hidroetanólico e etanólico das plantas aveloz (*Euphorbia*

tirucalli), boldo (*Pneumus boldus*) e cânfora (*Cinnamomum camphora*) sobre o crescimento micelial dos fitopatógenos de interesse agrícola *Alternaria* sp e *Fusarium* sp., e identificar os principais componentes fitoquímicos encontrados nestas plantas.

Metodologia

As plantas foram coletadas nas proximidades da Universidade de Caxias do Sul - INBI/UCS – Caxias do Sul. Os fungos fitopatogênicos *Alternaria* sp. e *Fusarium* sp. foram isolados de tomate e cebola com sintomas de alternariose e fusariose, respectivamente.

Para a obtenção dos extratos aquosos, utilizou-se 20 g de planta seca e moída misturada em 80 mL de água. Após 24 h, a mistura foi filtrada em papel filtro e em membrana de celulose (0,20 µm). Para a obtenção dos extratos hidroetanólicos, 20 g de cada planta seca e moída foi liquidificada com 80 mL de etanol 70%. Logo em seguida a mistura foi filtrada em papel filtro e membrana 0,20 µm e o etanol evaporado em banho-maria a 45° C. Para obterem-se os extratos etanólicos, 60 g de cada planta e 200 mL de etanol PA foram colocados em frasco âmbar por 15 dias. Após, o líquido foi filtrado e o etanol evaporado em evaporador rotatório (Celoto *et al.*, 2008 – modificado). O extrato etanólico de cada planta foi submetido a cromatografia líquida HPLC série 1100, para verificar os grupos flavonóides, ácidos fenólicos, alcalóides e taninos.

Testes *in vitro*: Conforme Silva (2007), os extratos aquosos e hidroetanólicos a 5, 10, 15 e 20% foram incorporados ao meio BDA fundente. Depois de autoclavadas, cada mistura foi transferida para placas de Petri (5 repetições), as quais receberam dois discos de 4 mm colonizados com cada um dos fungos alvo. Em seguida as placas foram incubadas em BOD com foto período de 12 h, a 26° C por 72 h. Placas contendo BDA com o fungo serviram como testemunha. Os extratos etanólicos nas concentrações de 2 mg.mL⁻¹, 4 mg.mL⁻¹ e 6 mg.mL⁻¹ foram incorporados no BDA. O meio foi autoclavado e após, vertido nas placas de Petri. Dois discos de quatro mm de Agar colonizado pelo fungo foram transferidos para a placa contendo o extrato e em seguida foram incubados em BOD com foto período de 12 h, a 26° C por 72 h. A avaliação da atividade antifúngica foi feita pela medida do diâmetro das colônias, 72 h após o repique. Foi utilizada análise de variância (ANOVA one-way), teste Tukey, utilizando-se o programa SPSS (PASW Statistics 18).

Resultados e discussões

Na Tabela 1 estão demonstrados os resultados das Análises Fitoquímicas. Em relação ao extrato etanólico de aveloz, os flavonóides e ácidos fenólicos que mais se destacaram foi o ácido clorogênico (0,0992 mg/mL) e a rutina (0,0756 mg/mL), respectivamente. Em relação aos taninos, foram testados: catequina, epicatequina e ácido gálico, mas nenhum dos extratos apresentou estes compostos.

Tabela 1. Concentrações de fitoquímicos encontrados nos extratos de aveloz, boldo e cânfora

	Extratos testados		
	Aveloz	Boldo	Cânfora
Alcalóides	Concentrações (mg/mL)		
Cafeína	0,0184	0,0002607	0,00017351
Teofilina	0,0243	-	-
Flavonóides e Ácidos Fenólicos			
Ácido clorogênico	0,0992	0,0009104	0,025028
Ácido ferúlico	0,0139	0,0014216	0,00069117
Rutina	0,0756	0,0032583	0,043290
Quercetina	0,00367	0,0032582	-
Aspigenina	-	0,0027785	-
Naringina	-	0,0013503	-
Luteolina	0,0119	-	-

Atividade antifúngica: Na Tabela 2, são apresentados dados relativos às características fungicidas dos extratos aquoso e hidroetanólico de aveloz, boldo e cânfora no controle de *Alternaria* sp. Os extratos aquosos de aveloz (AQ1 Aveloz) e boldo (AQ1 boldo) apresentaram percentual inibitório interessante, sendo que a 20%, a inibição do crescimento micelial foi significativa. O extrato aquoso de cânfora (AQ1 cânfora) não apresentou inibição em nenhuma das concentrações testadas.

Tabela 2. Percentual de inibição do crescimento micelial dos extratos aquosos e hidroetanólicos de aveloz, boldo e cânfora, sobre *Alternaria* sp. em 72 h.

Extratos	5%	10%	15%	20%	CV%
	Percentual de inibição				
AQ1 Aveloz	0,57 b	0,98 b	1,14 b	2,80 a	74
AQ1 Boldo	3,59 d	6,26 c	10,15 b	15,42 a	9
AQ1 Cânfora	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	99
AH2 Aveloz	56,59 b	88,60 a	88,59 a	88,60 a	1
AH2 Boldo	58,03 c	80,95 b	86,38 a	86,74 a	0,6
AH2 Cânfora	63,22 c	87,58 b	88,29 a	88,37 a	0,4

AQ1 Extrato aquoso. AH2 Extrato hidroetanólico. Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os extratos etanólicos de aveloz, boldo e cânfora (Tabela 3) apresentaram efeito inibitório nas concentrações de 4 mg.mL⁻¹ e 6 mg.mL⁻¹ no controle de *Alternaria* sp.

Tabela 3. Percentual de inibição do crescimento micelial dos extratos etanólicos de aveloz, boldo e cânfora sobre *Alternaria* sp. em 72h.

Extratos	Concentrações dos extratos			CV%
	2 mg/ml ⁻¹	4 mg/ml ⁻¹	6 mg/ml ⁻¹	
	Percentual de inibição (%)			
AE3 Aveloz	1,10 b	18,06 a	19,06 a	24
AE3 Boldo	32,0 b	43,67 a	42,13 a	6
AE3 Cânfora	34,61 b	43,72 a	44,29 a	6

AE3 Extrato etanólico. Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Na Tabela 4 são apresentados os dados relativos à inibição dos extratos sobre o fitopatógeno *Fusarium* sp. O extrato aquoso de aveloz (AQ1 aveloz) apresentou baixo percentual inibitório em todas as concentrações testadas. O extrato aquoso de boldo (AQ1 boldo) apresentou 32% de inibição micelial na concentração 20%, diferenci-

ando-se significativamente das outras concentrações. O extrato aquoso de cânfora (AQ1 cânfora) apresentou maior porcentagem de inibição micelial, 36% na concentração 20%, porém sem diferenças significativas entre as demais concentrações. Em relação aos resultados dos extratos hidroetanólicos, verificou-se que os três extratos apresentaram alta taxa de inibição; aveloz e boldo aproximaram-se de 90% para as concentrações de 10 a 20% e o extrato de cânfora apresentou inibição acima de 90% nas concentrações 15 e 20%.

Tabela 4. Percentual de inibição do crescimento micelial dos extratos aquosos e hidroetanólicos de aveloz, boldo e cânfora sobre *Fusarium* sp. em 72h.

Extratos	Concentrações			CV%
	2mg/ml ⁻¹	4mg/ml ⁻¹	6mg/ml ⁻¹	
Percentual de inibição (%)				
AE3 Aveloz	29,82 b	10,59 c	74,65 a	13
AE3 Boldo	17,09 b	34,29 a	12,23 b	20
AE3 Cânfora	25,48 b	29,62 b	46,32 a	11

AQ1 Extrato aquoso. AH2 Extrato hidroetanólico. Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Na Tabela 5 são apresentados os dados obtidos nos tratamentos realizados com os extratos em relação ao desenvolvimento de *Fusarium* sp. O extrato etanólico de aveloz (AE3 aveloz) apresentou maior porcentagem (74%) de inibição na concentração 6 mg.mL⁻¹. O extrato etanólico de boldo (AE3 boldo) apresentou maior porcentagem (34%) de inibição na concentração 4 mg.mL⁻¹. Já, o extrato etanólico de cânfora (AE3 cânfora) apresentou maior porcentagem (46%) de inibição na concentração 6 mg.mL⁻¹, diferenciando-se significativamente das demais concentrações testadas.

Tabela 5. Percentual de inibição do crescimento micelial de *Fusarium* sp. tratado com os extratos etanólicos de aveloz, boldo e cânfora em 72h.

Extratos	Concentrações			CV%
	2mg/ml ⁻¹	4mg/ml ⁻¹	6mg/ml ⁻¹	
Percentual de inibição (%)				
AE3 Aveloz	29,82 b	10,59 c	74,65 a	13
AE3 Boldo	17,09 b	34,29 a	12,23 b	20
AE3 Cânfora	25,48 b	29,62 b	46,32 a	11

AE3 Extrato etanólico. Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Neste trabalho observamos que os extratos botânicos podem variar em relação à intensidade da atividade biológica em função da sua composição e da sensibilidade do fungo alvo. Itcheno et al. (2010), por exemplo, testaram extratos etanólicos de quaresmeira (*Annona* sp.), crem (*Armoracea rusticana*) e bucha-vegetal (*Luffa cylindrica*). O melhor resultado foi obtido com a quaresmeira inibindo 82% para *A. solani* e 79% para o *F. oxysporum* e o pior resultado foi com o extrato etanólico de bucha-vegetal, que inibiu apenas em 6,39%, o fungo *A. solani*.

Conclusão

Os dados obtidos neste trabalho permitiram concluir que as plantas aveloz (*Euphorbia tirucalli*), boldo (*Pneumus boldus*) e cânfora (*Cinnamomun camphora*) tem potencial para o controle do desenvolvimento dos fungos *Alternaria* sp e *Fusarium* sp. quando preparadas na forma de extratos etanólico e hidroetanólico.

Referências Bibliográficas

BRASILEIRO, B.G.; COSTA, A.S.V.; JAMAL, C. M.; NICOLI, A.; PAULA JÚNIOR T. J.; SILVA, M. B.; SILVA, C. A.; TEIXEIRA, H. Ação antimicrobiana de extratos de plantas medicinais sobre espécies fitopatogênicas de fungos do gênero *Colletotrichum*. Rev. Bras. Pl. Med. Botucatu, v.10, n.3, p.57-60. 2008.

CELOTO, M.I.B.; PAPA, M.F.S.; SACRAMENTO, L.V.S.; CELOTO, F.J.. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. Acta Scientiarum Agronomy. Maringá, v.30, n.1, p.1-5. Modificada. 2008.

ILTHENCO, J. FONTANA, V. ANGONESE, M.T. SARTORI, V.C. RIBEIRO, R.T. Atividade fungistática “in vitro” de extratos etanólicos sobre *Alternaria solani* e *Fusarium oxysporum*. Cadernos de Agroecologia, v.5, n.1, 2010.

SANTOS, R.I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: Simões, C.M.O., et al. Farmacognosia da planta ao medicamento. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, cap. 16, p. 323-354, 2000.

SANTOS, S. C.; MELLO, J. C. P. Taninos. In: SIMÕES, C.M.O., et al. Farmacognosia da planta ao medicamento. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, cap. 24, p. 517-544, 1999.

SILVA, J. C. Uso de óleos essenciais, extratos vegetais e indutores de resistência no controle alternativo do mal-do-Panamá da bananeira. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, Alagoas. Brasil. Modificada, 2007.