

FUNGIOTOXIDADE DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Bauhinia monandra* SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL DE *Cladosporium cladosporioides* E *Colletotrichum lindemuthianum*

George Layson da Silva OLIVEIRA (1); Laís Maria Resende de CASTRO (2); Lucas Pinheiro DIAS (3); Daniel GOMES (4) Maria Fernanda Freitas de BRITO (5)

- (1) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – IFPI, e-mail: georgenota10@hotmail.com
- (2) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – IFPI, e-mail: laisarecastro@hotmail.com
- (3) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – IFPI, e-mail: lpinheirodias@gmail.com
- (4) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – IFPI, e-mail: holythunder@hotmail.com
- (5) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – IFPI, e-mail: nandinha91_freitas@hotmail.com

RESUMO

Compostos secundários presentes em plantas medicinais podem desempenhar funções importantes em interações planta-patógeno, através de ação antimicrobiana direta ou ativando mecanismos de defesa de outras plantas que venham a ser tratadas com esses compostos. Neste contexto, as plantas medicinais representam uma alternativa para a substituição dos fungicidas sintéticos por produtos naturais, uma vez que estas possuem grande quantidade e variedade de metabólitos secundários com propriedades biológicas. Esse trabalho é uma pesquisa experimental e o objetivo é avaliar a fungiotoxidade do extrato etanólico da folha da *Bauhinia monandra*, em diferentes concentrações, sobre o crescimento micelial de *Cladosporium cladosporioides* e *Colletotrichum lindemuthianum*. As partes dos vegetais em análise foram coletadas em bairros da cidade de Teresina-PI. As folhas de *B.monandra* foram trituradas e moídas em moinho de facas e extraídas quatro vezes com etanol 99% por um período de aproximadamente 16 dias. Foi realizado o teste de fungiotoxidade com os extratos etanólicos (EtOH), diluído em meio BDA. Após solidificação do meio, foi feita a inoculação com discos de micélio dos fungos em estudo, e incubação a 30°C durante sete dias. O resultado foi obtido comparando-se o diâmetro das placas-teste com as testemunhas. O extrato etanólico da folha da *B.monandra* demonstrou atividade inibitória no controle do crescimento dos fitopatógenos *Cladosporium cladosporioides* e *Colletotrichum lindemuthianum*.

Palavras-chave: *Bauhinia monandra*, *Cladosporium cladosporioides*, *Colletotrichum lindemuthianum*, fungiotoxidade

1 INTRODUÇÃO

A agricultura moderna tem aumentado tanto sua potencialidade de produção, quanto à aplicação de produtos tóxicos para o controle de pragas e doenças de plantas. O uso indiscriminado de fungicidas tem causado danos ao meio ambiente, aos seres vivos e tem favorecido a seleção de raças resistentes de patógenos a estas substâncias químicas (GHINI & KIMATI, 2000).

Termos como “agricultura sustentável” ou “agricultura alternativa” presumem expressão política (ZADOKS, 1992), estimulando a busca por novas medidas de proteção das plantas contra as doenças. Um dos enfoques da agricultura alternativa é o controle alternativo de doenças, o qual inclui o controle biológico e a indução de resistência em plantas (BETTIOL, 1997).

Entre as inúmeras espécies vegetais de interesse medicinal, encontram-se as plantas do gênero *Bauhinia*, pertencentes à família Fabaceae, conhecida como pata-de-vaca ou mororó, as quais são encontradas principalmente nas áreas tropicais do planeta, compreendendo aproximadamente 300 espécies. Muitas destas plantas são usadas como remédio na medicina popular em várias regiões do mundo, incluindo a África, Ásia e América Central e do Sul (SILVA & FILHO, 2002).

Os estudos fitoquímicos e farmacológicos realizados com estas plantas indicam que as mesmas são constituídas principalmente de glicosídeos esteroídicos, triterpenos, lactonas e flavonóides.

No Brasil, as plantas do gênero *Bauhinia* são conhecidas como "Pata-de-vaca" ou "Unha-de-boi". As folhas, caules e raízes das espécies de *Bauhinia*, especialmente *B. manca*, *B. rufescens*, *B. forficata*, *B. cheitantha* e *B. splendens*, são amplamente utilizadas no Brasil e em outros países em forma de chás e outras preparações fitoterápicas para o tratamento de várias enfermidades, principalmente infecções, processos dolorosos e diabetes.

O emprego de substâncias extraídas de vegetais que podem atuar na inibição de fungos fitopatogênicos representa uma opção no controle de doenças no campo (COUTINHO et al., 1999). Nesse sentido, muitos pesquisadores têm se dedicado à busca de produtos naturais com atividade fungitóxica e sua aplicação no controle de fungos fitopatogênicos que causam grandes prejuízos para culturas de interesse econômico. Dentre esses produtos, os óleos essenciais, caracterizados como metabólitos secundários de plantas e de baixa toxicidade a mamíferos, são amplamente testados no controle de tais pragas agrícolas (SILVA & BASTOS, 2007).

Os estudos envolvendo a utilização de extratos vegetais de plantas superiores e de fungos, considerados como defensivos alternativos, visando o controle de fitopatogênicos, podem contribuir para: a) o atendimento à crescente demanda por produtos que controlem doenças em culturas não contempladas pela agricultura convencional, b) a substituição dos fungicidas muito tóxicos por fungicidas com baixa toxidez, c) o desenvolvimento de uma opção viável de controle de doenças fúngicas em cultivos orgânicos e ao mesmo tempo, d) o desenvolvimento de um método eficaz a ser utilizado em estratégias anti-resistência dentro do manejo integrado de doenças.

Muitos metabólitos secundários encontrados nas plantas possuem funções de defesa contra herbívoros, pragas e patógenos (BENNETT & WALLSGROVE, 1994). Segundo Harborne (1994), a diversidade bioquímica das plantas é tão rica quanto a dos animais. Diversas moléculas complexas pertencentes à classe dos terpenóides, alcalóides e compostos fenólicos são sintetizados pelo chamado metabolismo secundário das plantas e são de grande importância nas relações ecológicas planta/planta, planta/animal e, inclusive, planta/microrganismo fitopatogênico. O mesmo autor destaca que a riqueza de seu metabolismo se explica pelo fato de que as plantas estão enraizadas no solo onde vivem, não podendo reagir como os animais às adversidades do ambiente.

Um dos focos de estudo são os chamados metabólitos secundários. As plantas produzem diversos compostos orgânicos, muitos dos quais não participam diretamente de seu desenvolvimento. Essas substâncias referidas como metabólitos secundários ou produtos naturais desempenham um papel fundamental nas suas interações de defesa contra predadores e patógenos. Muitos destes metabólitos

secundários apresentam atividades biológicas e têm sido utilizados na indústria farmacêutica e agroquímica (ANDRADE, 2006).

O entendimento das propriedades antimicrobianas dos compostos secundários presentes nessa planta medicinal podem contribuir para a aquisição de novas técnicas de controle de doenças de plantas.

Diante do exposto, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de verificar o potencial antifúngico do extrato etanólico da *B.monandra* sobre o crescimento micelial de *Cladosporium cladosporioides* e *Colletotrichum lindemuthianum*.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Diversos trabalhos mostram o potencial de plantas medicinais no controle de fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela capacidade de induzir o acúmulo de fitoalexinas (BERNARDO et.al., 1998).

A palavra fungicida “stricto sensu” (do latim “caedo”=matar + “fungus”=fungo), significa tudo aquilo que é capaz de matar fungos. Dessa forma, calor, ácidos, luz ultravioleta e outros agentes físicos seriam considerados fungicidas. Entretanto, devido ao interesse prático de seu uso no controle de doenças de plantas, o termo fungicida é utilizado de forma restrita a compostos químicos capazes de prevenir ou atenuar infecções de tecidos de plantas vivas por fungos fitopatogênicos.

Dentro deste conceito, substâncias que, sem serem letais, inibem a germinação de esporos e o crescimento miceliano (fungistáticas) e aquelas que, permitindo o crescimento miceliano, inibem a reprodução por esporulação (anti-esporulantes), são consideradas fungicidas (AZEVEDO, 2003).

A utilização de fungicidas é, em muitos casos, a única medida eficiente e economicamente viável de garantir alta produtividade e qualidade de produção, visadas pela agricultura moderna (KIMATI, 1995). Ao mesmo tempo, é também considerada uma tecnologia que traz impactos negativos ao meio ambiente e à saúde pública (BETTIOL, 1997).

Nas últimas décadas, o controle das doenças e pragas na agricultura tem se intensificado, sendo realizado basicamente através do emprego de produtos sintéticos, com elevados custos e riscos ambientais (desequilíbrio ecológico) e toxicológicos (elevada concentração nos alimentos). A busca de substitutos para estes produtos encontra nas plantas uma alternativa de interesse econômico e ecológico bastante promissor. O uso de extratos vegetais e óleos essenciais, por exemplo, têm sido fonte de inúmeras pesquisas que validam sua eficácia (HERNANDEZ *et al.*, 1998; OWOLADE *et al.*, 2000; SOUZA *et al.*, 2002; MORAIS, 2004).

A grande preocupação com o meio ambiente tem levado inúmeros pesquisadores a buscarem alternativas viáveis, efetivas e seguras no controle de pragas e doenças que acometem culturas de plantas de interesse comercial (KIMATI, 1995).

O gênero *Cladosporium* possui 734 espécies registradas válidas na literatura, apresentando 73 variedades e 40 formas especiais (Index Fungorum, 2010), no Brasil são conhecidas 26 gêneros de *Cladosporium* (Embrapa, 2010). O *Cladosporium* sp., possui 915 hospedeiras ocorrendo em vários países, como: *Acacia decurrens* (Malásia), *Bauhinia variegata* (Índia), *Tabebuia* sp. (Brasil), *Citrus aurantifolia* (México), *Phoenix dactylifera* (Califórnia).

Colletotrichum lindemuthianum, cuja fase perfeita corresponde a *Glomerella cingulata* f. sp. *phaseoli* (SUTON, 1992) pertence à subdivisão Deuteromycotina (BIANCHINI et al., 1997). O micélio é ramificado, septado e sua coloração, à medida que envelhece, varia de hialina a quase negra. Os conídios são hialinos, unicelulares, oblongos a cilíndricos, apresentando as extremidades arredondadas ou uma delas pontiaguda. Normalmente, apresentam na parte central uma área clara semelhante a um vacúolo. A massa de esporos formada nos acérvulos possui coloração rósea. Os conidióforos são hialinos, eretos e sem ramificações. Os acérvulos possuem setas, encontradas no hospedeiro, que são produzidas entre os conidióforos ou nas margens dos acérvulos, são pontiagudas, rígidas, septadas e de coloração castanha (RAVA, SARTORATO & BOTELHO, 1998).

3 METODOLOGIA

3.1 Planta medicinal e obtenção de extrato

As partes dos vegetais em análise, da *Bauhinia monandra*, foram coletadas em alguns bairros do município de Teresina-PI.

As folhas de *B.monandra* foram trituradas e moídas em moinho de facas e extraídas quatro vezes com etanol 99% por um período de aproximadamente 16 dias. O material dissolvido em etanol foi filtrado e concentrado parcialmente em evaporador rotatório sob pressão reduzida e determinado o peso seco para realização do teste de fungitoxidade.

3.2 Ensaio de inibição do crescimento micelial

A atividade antifúngica foi avaliada por meio da inibição do crescimento micelial de *Cladosporium cladosporioides* e *Colletotrichum lindemuthianum* de acordo com a metodologia proposta por Franzener et al (2007). A linhagem dos fungos foi obtida no laboratório de biologia do Instituto Federal do Piauí, campus central.

O extrato etanólico da planta em estudo foi incorporados ao meio de cultura (BDA) ainda quente de modo a obter-se três diferentes concentrações: 1, 0,75, 0,5 uL/mL de BDA. Após a solidificação do meio, um disco de micélio de 6 mm de diâmetro de cada fungo foi transferido de uma cultura pura de sete dias para o centro da placa.

A avaliação foi realizada através de duas medições diametralmente opostas das colônias quando o controle (BDA sem adição de óleo) atingiu o máximo de crescimento. O experimento foi conduzido em triplicatas de forma inteiramente casualizada.

4 ANALISE E INTERPRETAÇÃO DOS DADOS

Os resultados obtidos nos ensaios de fungitoxidade do extrato etanólico da *B.monandra* sobre os fitopatógenos *C. cladosporioides* e *C. lindemuthianum* estão expresso na tabelas 1.

Tabela 1: Taxa de inibição do crescimento micelial de *C. cladosporioides* e *C. lindemuthianum* sobre a ação do extrato etanólico da *B.monandra*.

FUNGO	CONCENTRAÇÃO (uL/mL de BDA)	CRESCIMENTO MICELIAL (cm)	TAXA DE INIBIÇÃO (%)
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	1,0	5,16	20,37%
	0,75	5.56	14,19%
	0,5	5,98	7,71%
		CONTROLE: 6.48	
<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	1,0	3,4	15%
	0,75	3,7	7,5%
	0,5	3,75	6,25%

		CONTROLE: 4.0	
--	--	---------------	--

Com o aumento da concentração do extrato etanólico da folha da *B.monandra* houve uma considerável atividade inibitória no controle do crescimento dos fitopatógenos *C. cladosporioides* e *C. lindemunthianum* nas concentrações 1,0, 0,75, 0,5 uL/mL. Observou-se uma variação na taxa de inibição de 20,37% a 7,71% para o fitopatógeno *C. cladosporioides* e de 15% a 6,25% para o fitopatógeno *C. lindemunthianum*.

Sendo que ficou evidenciado uma maior atividade inibitória em *C. cladosporioides* o que demonstra maior eficácia do extrato diante deste tipo de fungo.

Para algumas espécies de *Bauhinia* são atribuídas propriedades antifúngicas, antibacterianas, antiinflamatórias, e em especial antidiabética (SILVA & FILHO, 2002). Souza e colaboradores avaliaram a atividade antimicrobiana dos extratos e frações da *B. forficata* e *B. microstachya* através do método de difusão radial em ágar, observando que somente uma fração da *B. forficata* inibiu o crescimento da *E. coli* e *S. aureus* na concentração de 1000 µg/ml. A espécie *B. microstachya* não apresentou atividade antimicrobiana.

O uso medicinal das plantas pertencentes ao gênero *Bauhinia* pela população de diferentes partes do mundo tem encontrado respaldo nos estudos científicos, que comprovam a eficácia destas plantas em vários modelos experimentais. Neste contexto, alguns efeitos biológicos ou farmacológicos, como antifúngicos, antibacterianos, analgésicos, antiinflamatórios e especialmente antidiabéticos, são relatados na literatura, comprovando e justificando o uso destas espécies na medicina popular.

5 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos pode-se concluir que o extrato etanólico de *B.monandra* é um agente com capacidade antifúngica no controle de crescimento micelial dos fitopatógenos *Cladosporium cladosporioides* e *Colletotrichum lindemunthianum*, confirmando resultados da literatura.

Com a finalidade de reforçar a utilização de plantas medicinais como método alternativo vantajoso, por contemplar a prática de uma agricultura sustentável, sem prejuízos ao meio ambiente, existem a necessidade de novos estudos na busca por fungicidas naturais cujos efeitos para o meio ambiente são bem menos severos que os ocasionados pelos praguicidas sintéticos.

6 REFERÊNCIAS

- ANDRADE, S.P. de. **Avaliação da atividade antifúngica de extratos de *Cassia fistula* (Leguminosae)**. Osasco, SP: Revista. PIBIC v.3, n.2, p.151&158. 2006.
- AZEVEDO, L.A. S. **Fungicidas protetores: fundamentos para o uso racional**. 320p. Campinas: EMOPI Editora e Gráfica. 2003.
- BENNETT, R.N.; WALLSGROVE, R.M. **Os metabólitos secundários na defesa das plantas mecanismos**. New Phytologist, Cambridge, v.127, p.617-633, 1994.
- BERNARDO, R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. & PASCHOLATI, S. F. **Fungitoxicidade de alguns óleos essenciais contra fungos fitopatogênicos**. Fitopatologia Brasileira, 23: 227. 1998.
- BETTIOL, W. **Alguns produtos alternativos para o controle de doenças de plantas em agricultura orgânica**. Pp.52-63. In: Anais do 2º Ciclo de Palestras sobre Agricultura Orgânica. São Paulo.1997.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.P.G. **Doenças do feijoeiro**. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M.(Ed.). **Manual de Fitopatologia**. 3 ed. São Paulo: Agronômica Ceres; 1997. v.2, c.34: Doenças das Plantas Cultivadas.

COUTINHO, W. M., et al. **Efeitos de extratos de plantas anacardiáceas e dos fungicidas químicos Benomyl e Captan sobre a microflora e qualidade fisiológica de feijoeiro** (*Phaseolus vulgaris* L.). *Ciência e Agrotécnica*, v.23, p.560&568. 1999.

FRANZENER, G.; MARTINEZ-FRANZENER, AS; STANGARLIN JR; CZEPAK MP; SCHWAN-ESTRADA, KRF; CRUZ, M.E.S. **Antibacteriana, antifúngica e indução de atividades de fitoalexinas hidrolatos de plantas medicinais**. *Ciências Agrárias, Londrina*, v. 28, n.: Semina 1, p. 29-38. 2007.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de Fungos a fungicidas**. 1ª edição. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 78p.

HARBORNE JB 1994. **Os flavonóides - avanços na pesquisa desde 1986**. Londres: Chapman & Hall.

HERNANDEZ, E., RAMISSE, F., DUCOUREAU, JP, CRUEL, T., e CAVALLO, JD *Bacillus thuringiensis* subsp. *konkukian* (sorotipo H34) superinfecção: **relato de caso e evidências experimentais de patogenicidade em camundongos imunossuprimidos**. *J. Clin. Microbiol.* 1998 Jul; 36 (7) :2138-9.

EMBRAPA CENARGEM disponível em: <http://www.cenargem.embrapa.br/> Acessado em: 17 de abril de 2010.

INDEX FUNGORUM disponível em: <http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp> Acessado em: 17 de abril de 2010.

KIMATI, H. **Controle Químico**. Pp. 761-785. In: BERGAMIN FILHO, A; KIMATI, H; AMORIN, L. (Eds.) *Manual de Fitopatologia - Princípios e Conceitos* (1). São Paulo: Agronômica Ceres. 1995

MORAIS, M.S. **Efeito de dois extratos vegetais sobre o desenvolvimento de *Fusarium oxysporum* e da incidência da murcha em feijão-vagem**. Dissertação de Mestrado. Areia PB. Universidade Federal da Paraíba. 2004.

OWOLADE, O.F. Amusa, A.N. & OSIKANLU, Y.O.Q. **Eficácia de alguns extratos de plantas indígenas contra infecções transmitidas pela semente de *Fusarium moniliforme* em milho (*Zea mays* L.) no sudoeste da Nigéria**. *Cereal Research Communications* 28:323-27. 2000.

RAVA, C.A; SARTORATO, A.& BOTELHO, S.A. **Eficiência in vitro e in vivo de fungicidas no controle de *Colletotrichum lindemuthianum***. *Summa Phytopathologica*, v. 24, p. 45-48, 1998.

SYSTEMATIC BOTANY OF MYCOLOGICAL RESOURCES: disponível em <http://nt.ars-grin.gov/> Acessado em: 17 de abril de 2010.

SILVA, M.L. & FILHO, V.C. **Plantas do gênero *Bauhinia*: composição química e potencial farmacológico**. *Química Nova*, v.25, n.3, p.449-454, 2002.

SILVIA, D.M.M.H. & BASTOS, C. N. **Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de *Piper* sobre *Crinipellis pernicios*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici***. *Fitopatol. Bras.*, v.32, n.2. 2007.

SOUZA, M.A.A., BORGES, R.S.O.S., STAR, M.L.M. & SOUZA, S.R. **Efeito de extratos aquosos, metanólicos e etanólicos de plantas medicinais sobre a germinação de sementes de alface e sobre o desenvolvimento micelial de fungos fitopatogênicos de interesse agrícola**. *Revista Universidade Rural* 22:181-185. 2002.

SUTTON, Ac. **O *Glomerella* gênero e sua fase anamórfica *Colletotrichum***. In: BAILEY, J.A.; Jeger, M.J. (Ed.). *Colletotrichum: patologia, biologia e controle*. Wallingford: CAB International, 1992. p.1-26.

ZADOKS, J.C. **Os custos de mudança na proteção de plantas**. *J. Plant Prot. Trop.*, Kuala Lumpur, v.9, p.151-159, 1992.