



BIOENSAIOS *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DAS FOLHAS DE *AMARANTHUS VIRIDIS* L. (AMARANTHACEAE)

R.M. Barcelos

B. Carminate; L.G.A. Oliveira; L.F. Carvalho; V.J. Belinelo; M.S. Almeida

Universidade Federal do Espírito Santo, São Mateus, ES, Rod. BR 101 Norte, Km 60, Bairro Litorâneo, São Mateus, ES, 29932 - 540, belinelo1@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Os pesquisadores desde o século XIX, com a introdução, da calda bordalesa, como fungicida no controle de pragas agrícolas, procuram por novas substâncias, tanto por via sintética como por meio de obtenção de extratos de plantas e microrganismos, para vencerem a resistência adquirida pelos fungos aos produtos em uso na agricultura. As plantas por meio do metabolismo secundário produzem substâncias que estão relacionadas ao seu mecanismo de defesa, em resposta ao ataque por predadores como fungos, bactérias, vírus, parasitas, insetos, moluscos ou animais superiores (Barbosa, 2004). Dentre as pragas que reduzem a produtividade agrícola brasileira, tem - se a antracnose ou podridão pós - colheita da bananeira (*Musa* sp), provocada pelo fungo *Colletotrichum musae* (Berk. & Curt.) Arx (Zambolim *et al.*, ., 2002) e a fusariose da pimenta - do - reino, causada pelo *Fusarium solani* f. sp. *piperis* (Benichmol *et al.*, ., 2008).

A aplicação de agrotóxicos é a principal forma de controle da maioria das pragas agrícolas, no entanto, o uso errôneo e indiscriminado tem propiciado o surgimento de patógenos resistentes a estas substâncias. Desse modo, vários métodos para o controle de doenças, como físicos, biológicos e alternativos onde são utilizados óleos essenciais e extratos de plantas, vem sendo estudados para minimizar ou substituir o uso de fungicidas e outros agrotóxicos (Bastos & Albuquerque, 2004).

No reino Plantae, dentro das Angiospermas, a família Amaranthaceae contem 160 gêneros e cerca de 2.400 espécies, sendo que a maioria é herbácea ou subarbusto, e poucas são árvores. É uma família cosmopolita, com

espécies encontradas em todos os continentes (Teutonico & Knorr, 2011; Lorenzi e Matos, 2008).

A planta daninha caruru, caruru - de - mancha, caruru - verde, bredo, amaranto - verde, caruru verdadeiro, cientificamente *Amaranthus viridis* L. (ou *A. gracilis*) é uma erva anual, ereta, de 40 a 100 cm de altura, pouco ramificada, ligeiramente pigmentada, com hastes grossas e um tanto carnosas. Multiplica - se apenas por sementes. É uma planta originária da África que se adaptou plenamente às condições edáficas de todo o território brasileiro, onde atualmente é considerada como sendo uma planta daninha (Lorenzi e Matos, 2008; Teutonico e Knorr, 2011).

OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi avaliar *in vitro* a atividade antifúngica dos extratos com hexano, diclorometano, acetato de etila e etanol de folhas de *Amaranthus viridis* L. (Amaranthaceae) em substituição a fungicidas sintéticos no controle ecológico dos fungos fitopatogênicos *Colletotrichum musae* (Berk. & Curt.) Arx, e *Fusarium solani* f. sp. *piperis* Alb. responsáveis pela antracnose da bananeira (*Musa* sp) e fusariose da pimenta - do - reino (*Piper nigrum* L.).

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal. O caruru foi coletado no campus da Universidade Federal do Espírito Santo, São Mateus, ES. As folhas foram lavadas, transferidas para estufa de secagem mantida à temperatura de 40 ± 5 °C, e

posteriormente moídas e armazenadas em recipiente de vidro hermeticamente fechado.

Obtenção do extrato e triagem fitoquímica. Para obtenção dos extratos orgânicos, o pó de caruru (50 g) foi triturado, para obtenção sequencialmente dos extratos com hexano, diclorometano, acetato de etila e etanol por turboextração, na proporção 1:10 de solvente, durante 30 minutos, com intervalos de 5 minutos. Após filtração, concentração, refrigeração e liofilização foram obtidos (m/m) os extratos hexânico (2,2%), diclorometânico (2,4%), acetato - etílico (3,2%) e etanólico (3,6%).

Cada extrato foi submetido a triagem fitoquímica para detecção das classes químicas: saponinas, ácidos orgânicos, açúcares redutores, polissacarídeos, fenóis e taninos, flavonóides, alcalóides, glicosídeos cardíacos, esteróides, triterpenóides e carotenóides, de acordo com protocolo sugerido por Barbosa (2004).

Ensaio antifúngicos. Os testes de atividade antifúngica foram realizados por microdiluição em caldo Sabouraud dextrose conforme metodologia padrão com cepas recentes de *Colletotrichum musae* (Berk. & Curt.) Arx, e o *Fusarium solani* f. sp. *piperis* Alb. (NCCLS, 2002). Para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) foram realizados testes em microplacas de 96 poços, partindo da concentração inicial de 1000,0 µg/mL até a final de 3,9 µg/mL dos quatro extratos de folhas de caruru. Para garantir a ausência de contaminantes ou a ineficiência do meio para o crescimento fúngico, os três últimos poços foram destinados ao controle do meio, do respectivo extrato e do fungo em questão. O experimento foi realizado em quintuplicata com incubação a 28 ± 2 °C por 60h para determinação da CIM. A concentração fungicida mínima (CFM) foi realizada em placas após leitura da CIM nos poços onde não foi observado crescimento fúngico. O controle positivo foi realizado com cetoconazol com concentração de 50,0 µg/mL. A análise estatística foi realizada utilizando teste de análise de variância, considerando significativos os valores para $p < 0,05$.

RESULTADOS

Nas últimas décadas, devido aos efeitos prejudiciais ao meio ambiente causado através da contaminação do solo, do lençol freático, rios e dos alimentos, e em função da resistência adquirida pelos microorganismos aos atuais agroquímicos sintéticos, as plantas medicinais voltaram a ser o foco da pesquisa para o desenvolvimento de novas entidades químicas bioativas.

Para a preservação ambiental com produção ecologicamente correta, os extratos vegetais têm sido utilizados no controle de pragas agrícolas. Dentre estes, citam-se os extratos de cavalinha (*Equisetum pyramidale* Goldm.), nim (*Azadirachta indica* A. Juss), urtiga (*Ur-*

tiga dioica L.) e de alho (*Allium sativum* L.) utilizados no controle de pragas agrícolas (Abreu Júnior, 1998; Hamerschmidt, 1999; Deffune, 2001; Santos *et al.*, ., 2010).

Pesquisas fitoquímicas realizadas neste trabalho indicaram que o extrato das folhas de *Amaranthus viridis* L. possui constituintes das classes: saponinas, fenóis e taninos, flavonóides, alcalóides, glicosídeos cardíacos, esteróides e triterpenóides. A presença deste tipo de constituintes biologicamente ativos é condizente com o trabalho desenvolvido por Maiyo *et al.*, . (2010), através do qual foi verificada uma relação entre os constituintes fitoquímicos e a atividade antimicrobiana dos extratos com hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, obtidos de folhas das espécies *Amaranthus hybridus*, *Amaranthus spinosus* e *Amaranthus caudatus*. Compostos das classes dos flavonóides, terpenóides e taninos têm apresentado atividade antimicrobiana (Simões *et al.*, ., 2007).

Através dos resultados obtidos dos testes com os extratos orgânicos de *Amaranthus viridis* verificou-se uma inibição estatisticamente significativa ($p < 0,05$) do crescimento do fungo *Colletotrichum musae* e do *Fusarium solani* sp. A CIM e a CFM variaram de 15,6 a 250,0 µg/mL para os extratos obtidos com: diclorometano (CIM=125,0 µg/mL e CFM=250,0 µg/mL), acetato de etila (15,6 e 15,6) e etanol (31,2 e 125,0). A CIM e a CFM para o fungo *Fusarium solani* sp., dos extratos variaram de 31,2 a 250,0 µg/mL com hexano (250,0 e 250,0), acetato de etila (31,2 e 62,5) e etanol (62,5 e 62,5).

No experimento com várias cultivares de bananeira, Pinho *et al.*, . (2010) observaram que todas são susceptíveis à antracnose causada pelo fungo *Colletotrichum musae*, o que exige aplicações repetidas de fungicidas durante todo o processo de produção de bananas. Resultados similares foram observados em relação à fusariose da pimenta - do - reino, cujos fungos acabam adquirindo resistência (Miranda *et al.*, ., 2007).

CONCLUSÃO

Pela análise fitoquímica constatou-se a presença de saponinas, fenóis e taninos, flavonóides, alcalóides, glicosídeos cardíacos, esteróides e triterpenóides em folhas de *Amaranthus viridis*.

Os ensaios *in vitro* para avaliação da atividade antifúngica indicaram sensibilidade das cepas dos fungos *Colletotrichum musae* (Berk. & Curt.) Arx e o *Fusarium solani* f. sp. *piperis* Alb. frente aos extratos orgânicos de caruru.

Agradecimentos

Ao CNPq, FAPES, CAPES e UFES (PROEX e PRPPG).

REFERÊNCIAS

- Abreu Junior, H. 1998. Práticas alternativas de controle de pragas e doenças na agricultura: coletânea de receitas. Campinas: EMOPI, 115 p.
- Barbosa, L. C. A. 2004. Os pesticidas, o homem e o meio ambiente. Viçosa: UFV, 215 p.
- Barbosa, W. L. R. (Org.). 2004. Manual para Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais. Revista Científica da UFPA, Belém, <http://www.ufpa.br/rcientifica>, 4.
- Bastos, C. N.; Albuquerque, P. S. B. 2004. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós - colheita de *Colletotricum musae* em banana. Fitopatol. Bras., 29(5): 555 - 557.
- Benchimol, R. L.; Silva, C. M.; Verzignassi, J. R. 2008. Utilização de substâncias naturais para o controle de doenças de plantas na região amazônica. Embrapa Amazônia Oriental: Boletim Técnico 346. 27 p.
- Deffune, G. 2001. Fitoalexinas e resistência sistêmica vegetal: a explicação dos defensivos naturais. Agroec. Hoje, 6: 6 - 7.
- Hamerschmidt, I. 1999. Manejo de pragas e doenças em sistemas orgânicos. Curitiba: EMATER, 17 p.
- Lorenzi, H.; Matos, F. J. A. 2008. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. 2. ed. Nova Odessa: Editora Plantarum, 576 p.
- Maiyo, Z. C. *et al.*, ., 2010. Phytochemical constituents and antimicrobial activity of leaf extracts of three *Amaranthus* plant species. Afr. J. Biotech., 9(21): 3178 - 3182.
- Miranda, B. A.; Lobo Júnior, M.; Cunha, M. G. 2007. Reação de cultivares do feijoeiro comum às podridões radiculares causadas por *Rhizoctonia solani* e *Fusarium solani* f. sp. Phaseoli. Pesq. Agrop. Trop., 37(4): 221 - 226.
- NCCLS. 2002. National Committee for Clinical Laboratory Standards. M27 - A2. Método de referência para testes de diluição em caldo para determinação da sensibilidade de leveduras à terapia antifúngica. 22(15): 14 - 42.
- NCCLS. 2002. National Committee for Clinical Laboratory Standards. M38 - A. Método de referência para testes de diluição em caldo para determinação da sensibilidade a terapia antifúngica de fungos filamentosos. 22(16): 1 - 50. *ip class="Pa3"»*Pinho, D. B. *et al.*, ., 2010. Avaliação de genótipos de bananeira à *Colletotrichum musae* em pós - colheita. Rev. Bras. Frutic., 32(3): 786 - 790.
- Santos, M. B. *et al.*, ., 2010. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de *Dioclea grandiflora* Mart. Ex. Benth, Fabaceae. Rev. Bras. Farmacog., 20(2): 208 - 214.
- Simões, C. M. O. *et al.*, ., 2007. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6. ed. Florianópolis: UFSC. Teutonico, R. A.; Knorr, D. Amaranth: composition, properties, and applications of a rediscovered food crop. Ecological Agricultura Projects. Disponível em http://eap.mcgill.ca/CPAT_1.htm. Acesso em: 25 fev 2011. *i/h1j*
- Zambolim, L. *et al.*, ., 2002. Controle de doenças de plantas: Fruteiras. Viçosa: UFV, 2, 1313 p.
- Zambolim, L. *et al.*, ., 2002. Controle de doenças de plantas: Fruteiras. Viçosa: UFV, 1, 674 p.