



## **EXTRATO DE ALHO NO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Colletotrichum lindemuthianum* E NA INDUÇÃO DE FASEOLINA EM *Phaseolus vulgaris*.**

**BRAND, Simone Cristiane<sup>1</sup>; BLUME, Elena<sup>2</sup>; SCHERREN, Mariana Bergoli<sup>3</sup>; MILANESI, Paola<sup>4</sup>; MÜLLER, Juceli<sup>5</sup>; ANTONELLO, Leonardo Magalhães<sup>5</sup>; MELLO, Paola de Azevedo<sup>6</sup>.**

<sup>1</sup> Dept<sup>o</sup> de Defesa Fitossanitária, UFSM. Avenida Roraima, nº. 1000, Cidade Universitária, Bairro Camobi - Santa Maria - RS. CEP 97105-900. E-mail: [monebrand@yahoo.com.br](mailto:monebrand@yahoo.com.br). Bolsista FAPERGS; <sup>2</sup> Professor Associado do Dept<sup>o</sup> de Defesa Fitossanitária, UFSM; <sup>3</sup> Acadêmica de Química Industrial, UFSM; <sup>4</sup> Mestranda em Agronomia, UFSM; <sup>5</sup> Acadêmico de Agronomia, UFSM; <sup>6</sup> Doutoranda em Química, UFSM.

### **1. INTRODUÇÃO**

Entre os extratos vegetais mais estudados, com ação antifúngica, encontra-se o obtido de alho (*Allium sativum*). Essa planta contém duas substâncias, a aliinase e a aliína, armazenadas separadamente. Em contato, quando as membranas que as isolam são rompidas, formam a alicina, que é um meio de defesa da planta que se forma apenas quando ela está sendo atacada por um parasita. Os efeitos tóxicos da alicina estendem-se a diversos microrganismos, inativando-os (Heinzmann, 2001; Serafini, 2004 *apud* Talamini & Stadnik, 2004).

O fracionamento dos metabólitos secundários presentes em plantas medicinais, e a determinação da atividade biológica dessas moléculas, como a atividade elicitora ou antimicrobiana, contribuirão para maiores conhecimentos que reforcem sua utilização como método alternativo de controle de doenças (Schwan-Estrada et al., 2000). A literatura já cita trabalhos relatando a ação antifúngica do extrato de alho sobre fitopatógenos como *Alternaria brassisicola*, *Botrytis cinerea*, *Magnaporthe grisea* e *Plectosphaerella cucumerina* (*Fusarium tabacinum*) (Curtis et al., 2004).

Além da ação fungitóxica, os extratos vegetais podem estimular a indução de fitoalexinas. A fitoalexina mais bem caracterizada na cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris*) é a faseolina, produzida quando as plantas são atacadas por fungos (Rahe et al., 1969). Braga (2001), afirma que o estudo da síntese de fitoalexinas, especialmente em espécies nativas, abre enormes perspectivas para a descoberta de novos produtos naturais com atividade antimicrobiana e cujas estruturas podem servir como modelo para a síntese química de defensivos agrícolas naturais.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antifúngica do extrato de alho (*Allium sativum* L.) sobre *Colletotrichum lindemuthianum*, bem como seu efeito no acúmulo de faseolina em hipocótilos de feijoeiro.

### **2. MATERIAL E MÉTODOS**

Para o preparo do extrato aquoso, foi utilizada a metodologia proposta por Vendramim e Castiglioni (2000). Bulbilhos de alho foram triturados em liquidificador

doméstico, para o preparo dos extratos na concentração 10% (10g de bulbilhos/90mL de água destilada), permanecendo imersos por 24 horas para extração dos princípios ativos e após filtrados em pano de algodão. Os homogenatos resultantes foram adicionados, ao meio de cultura BDA na concentração de 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0%, autoclavados a 120° C e um atm de pressão por 30 minutos. Um disco de 12 mm de diâmetro contendo micélio do fungo *Colletotrichum lindemuthianum* isolado 839, foi repicado para as placas de Petri contendo meio BDA com as diferentes doses dos extratos, sendo então incubadas a 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Realizou-se medições do diâmetro das colônias (média de duas medidas diametralmente opostas, marcadas no fundo das placas), a cada dois dias, durante 18 dias, com auxílio de um paquímetro digital.

Para determinação da faseolina, foi adotada a metodologia proposta por Dixon et al. (1983), com algumas modificações. Sementes de feijão foram esterilizadas em hipoclorito de sódio 1% por 5 minutos e, após lavadas em água estéril, semeadas em areia esterilizada e mantidas em câmara climatizada a 24°C no escuro por sete dias. Após, segmentos de hipocótilos, estiolados, com 5 cm de comprimento foram destacados das plântulas, lavados em água estéril e enxugados. Quatro segmentos de hipocótilo (aproximadamente 1g) foram colocados em placas de Petri contendo papel filtro umedecido com água destilada estéril. Sobre os hipocótilos foi aplicado 1 mL do extrato de alho autoclavado nas concentrações de 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0%. Como testemunha negativa foi utilizada água mili-Q e testemunha positiva o indutor de defesa vegetal Bion (Acibenzolar-S-Metil), na concentração de 160 ppm. As placas de Petri foram mantidas a 25°C no escuro. Após 48 horas, os hipocótilos foram transferidos para tubos de ensaio contendo 10 mL de etanol, sendo estes mantidos a 4 °C por 48 h para extração da fitoalexina formada, sendo após agitados por uma hora. A faseolina formada foi mensurada indiretamente, em espectro de absorção UV, a 280 nm (Bailey an Burden, 1983).

Os tratamentos foram arrançados em um esquema fatorial 9x7 (tempos e doses) e delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições por tratamento. Os dados de crescimento micelial e de determinação de faseolina foram analisados por meio de regressões polinomiais, utilizando o Sistema de Análise Estatística – SANEST (Zonta & Machado, 1984).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação entre os fatores doses e tempos na avaliação do crescimento micelial de *Colletotrichum lindemuthianum*. No entanto, optou-se por demonstrar os dados de crescimento de *C. lindemuthianum*, em tempos crescentes de incubação, em função de diferentes doses do extrato vegetal de alho, por ser o objetivo maior do trabalho. Nas 48, 96, 144, 192, 240 e 288 horas de avaliação, o crescimento do fungo, quando exposto às doses de extrato de alho, mostrou comportamento linear (Tabela 1), com redução até a dose de 3,0% (Gráfico 1).

Tabela 1 – Equações e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) para *Colletotrichum lindemuthianum* incubado com extrato vegetal de alho (*Allium sativum* L.) em diferentes tempos de avaliação (h). Santa Maria, 2008.

Tempo (h)	Equações	$R^2$
48	$Y = 16,00 - 1,47x$	0,8490
96	$Y = 26,85 - 3,21x$	0,9420
144	$Y = 35,16 - 3,96x$	0,9603

192	$Y = 43,83 - 4,41x$	0,9566
240	$Y = 52,41 - 4,92x$	0,9532
288	$Y = 60,55 - 5,44x$	0,9463
336	$Y = 68,28 - 3,03x - 0,82x^2$	0,9416
384	$Y = 73,35 + 0,29x - 1,67x^2$	0,9229
432	$Y = 76,32 + 2,26x - 1,82x^2$	0,9315

Nas avaliações subseqüentes (336, 384 e 432 horas) houve uma redução de forma quadrática no crescimento de *C. lindemuthianum*, com os menores valores na dose de 3,0%. Ribeiro e Bedendo, 1999, avaliando o efeito de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, constataram que o extrato de bulbilhos de alho inibiu o crescimento micelial, em porcentagens variáveis de 5,3 a 67,6%.

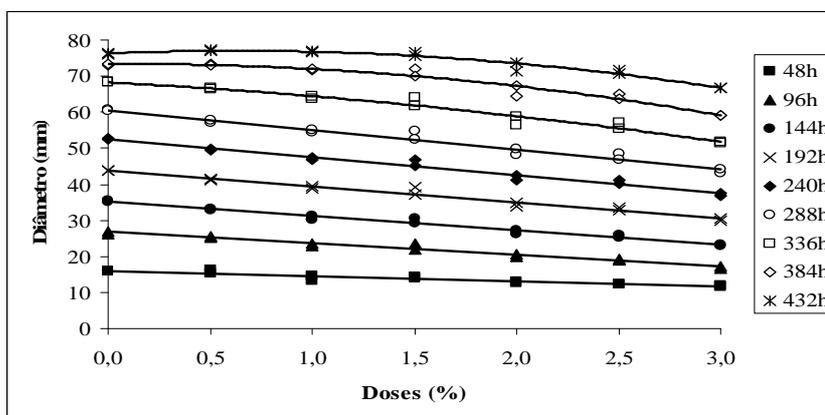


Gráfico 1 - Crescimento micelial de *Colletotrichum lindemuthianum*, em tempos crescentes de incubação, em função de diferentes concentrações do extrato vegetal de alho (*Allium sativum* L.). Santa Maria, 2008.

Com relação ao acúmulo de faseolina em hipocótilos de feijoeiro, o comportamento foi cúbico (Gráfico 2), havendo aumento na absorbância até a dose de 1,0% do extrato vegetal, sendo após observada uma redução até a dose de 2,5%, com posterior aumento na dose de 3,0%. A maior absorbância foi observada na dose de 1,0%, com valor de 1,37, superior ao tratamento com indutor de defesa vegetal Bion<sup>®</sup>, que apresentou absorbância de 1,34, indicando uma maior indução de faseolina pelo extrato vegetal de alho.

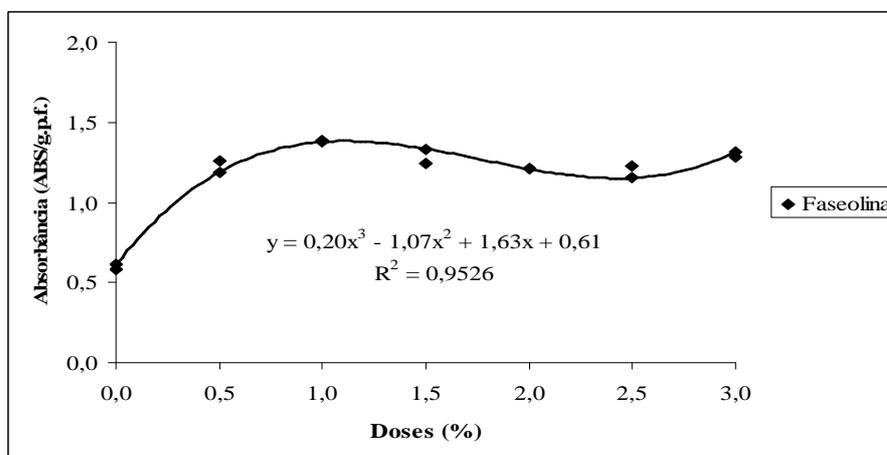


Gráfico 2 – Indução de faseolina em hipocótilos de feijão (*Phaseolus vulgaris*) tratados com diferentes doses de extrato de alho (*Allium sativum* L.), mensurada pela absorbância (280 nm)/grama de peso fresco (g. p. f.). Santa Maria, 2008.

#### 4. CONCLUSÃO

O extrato de alho apresentou ação antifúngica sobre *Colletotrichum lindemuthianum* e acúmulo de faseolina em hipocótilos de feijoeiro.

#### 5. AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), pelo auxílio financeiro na realização deste trabalho.

#### 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAILEY, J. A.; BURDEN, R. S. Biochemical changes and phytoalexin accumulation in *Phaseolus vulgaris* following cellular browning caused by tobacco necrosis virus. **Physiologic Plant Pathology**, 1983, v. 3, n.1, p.171-177.
- BRAGA, M. R. **Fitoalexinas e a defesa das plantas**. Capturado em: 24 out. 2006. On line. Disponível na internet: <http://www.sbg.org.br/PN-NET/texto5/defesa.htm>. 2001.
- CURTIS, H.; NOLL, U.; STORMANN, J.; SLUSARENKO, A. J. Broad-spectrum activity of the volatile phytoanticipin allicin in extracts of garlic (*Allium sativum* L.) against plant pathogenic bacteria, fungi and Oomycetes. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 2004, v. 65, p. 79–89.
- DIXON, R. A.; DEY, P. M.; LAWTON, M. A.; LAMB, C. J. Phytoalexin induction in french bean: intercellular transmission of elicitation in cell suspension cultures and hypocotyl sections of *Phaseolus vulgaris*. **Plant Physiology**, 1983, v. 71, n.2, p. 251-256.
- RAHE, J.E.; KUC, J.; CHUANG, C.M.; WILLIAMS, E.B. Induced resistance in *Phaseolus vulgaris* to bean anthracnose. **Phytopathology**, 1969, v. 59, p.1641-1645.
- RIBEIRO, L. F. & BEDENDO, I. P. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* - agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. **Scientia Agricola**, 1999, v. 56, p.1267-1271.
- SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, 2000, v. 30, p. 129-137.
- TALAMINI, V.; STADNIK, M. J. **Extratos Vegetais e de Algas no Controle de Doenças de Plantas**. In: TALAMINI, V. & STADNIK, M. J. Manejo Ecológico de Doenças de Plantas. Florianópolis, SC: CCA/UFSC, 2004, p. 45-62.
- VENDRAMIM, J.D.; CASTIGLIONI, E. Aleloquímicos, resistência de plantas e plantas inseticidas. In: GUEDES, J.C.; COSTA, I.D.; CASTIGLIONI, E. (Org.) **Bases e técnicas do manejo de insetos**. Santa Maria: Pallotti, 2000. p.113-128.
- ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. Sistema de Análise Estatística para Microcomputadores – SANEST. Pelotas: UFPel, 1984. 75p.