

A1-419 Efeito de extratos aquosos de plantas medicinais sobre leveduras de filoplano.

Gabriela Silva Moura¹; Jonas Marcelo Jaski²; Fabio Junior Telaxka³; Gilmar Franzener⁴; Daniele Carla Scheffer⁵

¹UFFS – Universidade Federal da Fronteira Sul, bismoura@hotmail.com; ²UFFS, jonasmjaski@hotmail.com; ³UFFS, fabio.agron@gmail.com; ⁴UFFS, gilmar.franzener@uffs.edu.br; ⁵, UFFS, dannielescheffer@gmail.com

Resumo

O objetivo do trabalho foi avaliar a atividade de extratos vegetais sobre leveduras de filoplano e potencialmente benéficas na defesa vegetal. Foram avaliados os extratos aquosos a 15% de alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia*), capim-limão (*Cymbopogon citratus*), carqueja (*Baccharis trimera*), cavalinha (*Equisetum hyemale*), hortelã (*Mentha spicata*), tansagem (*Plantago major*) e língua-de-vaca (*Rumex crispus*). Foram avaliados o número de colônias e de células formadas de dois isolados de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae* e isolado denominado L1) após 12 horas de contato com os extratos. O extrato de carqueja inibiu drasticamente o desenvolvimento de células de *S. cerevisiae*, confirmando seu potencial antimicrobiano. Extratos de tansagem, língua-de-vaca e cavalinha não afetaram as leveduras, inclusive com efeito estimulante, indicando potencial benéfico sobre essa microbiota.

Palavras-Chave: plantas bioativas; biodiversidade; levedura; feijão.

Abstract

The objective was to evaluate the activity of plant extracts on yeast phylloplane and potentially beneficial in plant resistance. We evaluated the aqueous extracts of *Baccharis dracunculifolia*, *Cymbopogon citratus*, *Baccharis trimera*, *Equisetum hyemale*, *Mentha spicata*, *Plantago major* and *Rumex crispus*, all at 15%. The number of colonies and cells formed two isolated yeast (*Saccharomyces cerevisiae* isolated and labeled L1) after 12 hours of contact with the extracts were evaluated. The broom extract dramatically inhibited the development of *S. cerevisiae* cells, confirming its antimicrobial potential. Tansagem extracts, tongue-in-beef and mackerel did not affect the yeast, including stimulating effect, indicating potential beneficial about this microbiota.

Keywords: bioactive plants; biodiversity; yeast; bean.

Introdução

O uso indiscriminado de agrotóxicos e seus impactos negativos na saúde e no meio ambiente tem levado a necessidade de repensar esse modelo agrícola. Neste sentido, alternativas vêm sendo criadas a fim de reduzir a dependência do agricultor a este modelo degradador dos recursos naturais e da biodiversidade nos ecossistemas. Entre as alternativas obtêm destaque a utilização de plantas bioativas. Uma espécie de planta bioativa pode apresentar em sua composição grande número de metabólitos secundários com atividade biológica (Schwan-Estrada; Stangarlin; Cruz, 2003; Silva et al., 2010).

Como alternativa no controle de doenças em plantas tem sido empregado com sucesso óleos essenciais ou extratos de plantas medicinais (Pinto et al., 2010). Estudos com extratos aquosos são comuns por reunir importantes princípios ativos das plantas. O potencial de extratos de plantas medicinais para controle alternativo de doenças em plantas já é

conhecido (Burg e Mayer, 2006; Stangarlin et al., 1999). Esses extratos podem favorecer a saúde da planta apresentando atividade antimicrobiana sobre o agente patogênico (Fiori et al., 2000) ou induzindo mecanismos de defesa nas plantas tratadas (Silva e Resende, 2001).

Muitos extratos vegetais podem apresentar elevada atividade antimicrobiana sobre fitopatógenos, no entanto ainda são poucas as informações de seus efeitos sobre organismos potencialmente benéficos às plantas. Na pesquisa realizada por Brand et al. (2007), observaram ausência de efeito fungicida sobre o fungo *Trichoderma* sp., um potencial agente de controle biológico, a partir do extrato de cancorosa (*Maytenus ilicifolia*).

A utilização de plantas medicinais como opção de controle ecológico de doenças e pragas torna-se de grande importância em sistema agroecológico. Essas plantas podem ocorrer espontaneamente ou podem ser cultivadas podendo ser facilmente obtidas pelo agricultor. O cultivo de plantas medicinais pode ainda representar alternativa de renda. A utilização de plantas bioativas em agroecossistemas não deve ser entendida como uma substituição de insumos, mas de grande relevância para o redesenho dos agroecossistemas e para disponibilizar derivados que permitam o manejo ecológico para saúde vegetal.

Apesar dessas técnicas serem bastante difundidas e utilizadas em agricultura de base ecológica, são escassas as informações de suas implicações sobre a microbiota do filoplano. Sabe-se sobre o efeito benéfico das leveduras como agentes no controle biológico de fungos fitopatogênicos (Lassois et al., 2008). O desafio nesta área é a expansão do conhecimento sobre o comportamento da levedura quando submetida a aplicação de extratos vegetais. Essa diversidade desses organismos são fundamentais para saúde vegetal e do sistema. Tais informações são de fundamental relevância para que medidas mais sustentáveis possam ser desenvolvidas e empregadas no manejo de doenças.

Neste contexto, a pesquisa tem como objetivo avaliar extratos vegetais com potencial protetor de plantas à doenças sobre levedurashabitantes de filoplano de folhas de feijoeiro.

Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal da Fronteira Sul-UFFS. Para o isolamento de leveduras do filoplano, foram coletadas folhas sadias de feijoeiro, lavadas com água destilada estéril, para retirada da poeira eventualmente presente. Após, foram cortados fragmentos de 1-3 mm e colocados em frascos erlenmeyers com 50 mL de água destilada estéril e mantidos em agitador mecânico ("skaker") por 10 minutos a 180 rpm. Esta água foi descartada e 30 mL de 0,5% Tween 20 foi acrescida ao frasco, mantidos em agitação por 30 min a 180 rpm. Para a dissociação das leveduras ainda remanescentes, este procedimento foi repetido por mais duas vezes.

Realizada a última lavagem, foram feitas as diluições decimais seriadas até a 10^{-2} e estas foram semeadas em duplicata pela técnica de espalhamento de superfície em YEPD (1% extrato de levedura; 2% peptona; 2% glicose, 2% agar, 0,01% ampicilina e 0,01% ácido nalidíxico, dissolvidos em água destilada) e YM (0,3 % de extrato de malte, 0,3 % de extrato de levedura, 0,5% de peptona, 1 % de glicose, 2 % de agar, dissolvidos em água destilada) (Rosa-Magri et al., 2011). As culturas foram incubadas a 25°C no escuro por um período de 3-7 dias. As colônias de leveduras com morfologias distintas foram isoladas, e analisadas em microscópio óptico comum. Em seguida, os isolados foram, confirmados como levedura, pela morfologia da colônia e da célula vegetativa.

Para avaliar o efeito de extratos de plantas bioativas sobre isolados de leveduras realizou-se os seguintes procedimentos. Para a obtenção dos extratos aquosos das plantas espontâneas medicinais alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia*), capim-limão (*Cymbopogon citratus*), carqueja (*Baccharis trimera*), cavalinha (*Equisetum hyemale*), hortelã (*Mentha spicata*), tansagem (*Plantago major*) e língua-de-vaca (*Rumex crispus*), foram coletados 15 g de folhas de cada planta e triturados em liquidificador, com 100 mL de meio de cultura YEPD. Posteriormente à obtenção, os extratos aquosos foram submetidos à esterilização à 21°C por 20 min.

Em seguida, foi preparada a suspensão de células do isolado de folhas de feijoeiro denominado de levedura L1 e *Saccharomyces cerevisiae*. Para isso, foi adicionado 10 mL de água destilada na placa, raspagem da colônia com bastão de vidro e filtragem em gaze, sendo determinado o número de células/ml com auxílio de uma câmara de Neubauer e a concentração ajustada a 1×10^7 células. mL^{-1} . Adicionou-se 1000 μL da suspensão de cada levedura nos frascos de erlenmeyers contendo os extratos aquosos e posteriormente estes foram mantidos em agitador mecânico (“skaker”) por 12 h a 120 rpm. Após retirou-se 200 μL de cada tratamento e adicionou em tubo de ensaio contendo 10 mL de água destilada estéril. Logo após, agitou-se previamente os tubos e realizou-se o plaqueamento com auxílio da alça de Drigalski de 100 μL de cada extrato aquoso em meio YEPD, em triplicata.

As placas foram mantidas em BOD à 25 °C por 48 horas. Por fim, foi realizado a contagem do número de colônias em cada placa e do número de células leveduras através da adição de 10 mL de água destilada estéril em cada placa, raspagem da colônia e filtragem em gaze, sendo determinado o número de células/ml com auxílio de uma câmara de Neubauer ao microscópio ótico.

Resultados e Discussão

Observou-se maior efeito inibidor no número de colônias do isolado de levedura L1 quando submetidas ao tratamento com extrato aquoso de carqueja 15%, seguido do extrato aquoso de hortelã, capim-limão e alecrim-do-campo em relação a testemunha contendo apenas o meio YEPD. Já para os extratos aquosos de cavalinha, tansagem e língua-de-vaca observou-se aumento expressivo no número de colônias do isolado L1 em relação à testemunha (Figura 1). Este resultado indica efeito estimulante destes extratos aquosos sobre o número de colônias.

Para a levedura *Saccharomyces cerevisiae* foi observado maior efeito inibitório no número de colônias quando submetida aos tratamentos alecrim-do-campo, capim-limão e carqueja. Os tratamentos hortelã e língua-de-vaca não apresentaram diferenças no número de colônias em relação a testemunha. Também como evidenciado para o isolado L1, os extratos aquosos de cavalinha e tansagem promoveram o aumento do número de colônias para *S. cerevisiae* (Figura 1).

Quanto ao número de células de leveduras foram obtidos resultados semelhantes (Figura 2). Sobre *S. cerevisiae* destacou-se o efeito inibidor do extrato de carqueja, não havendo diferença entre os demais em relação à testemunha. Sobre o isolado L1 de folhas de feijoeiro destacou-se o efeito estimulante do extrato de tansagem.

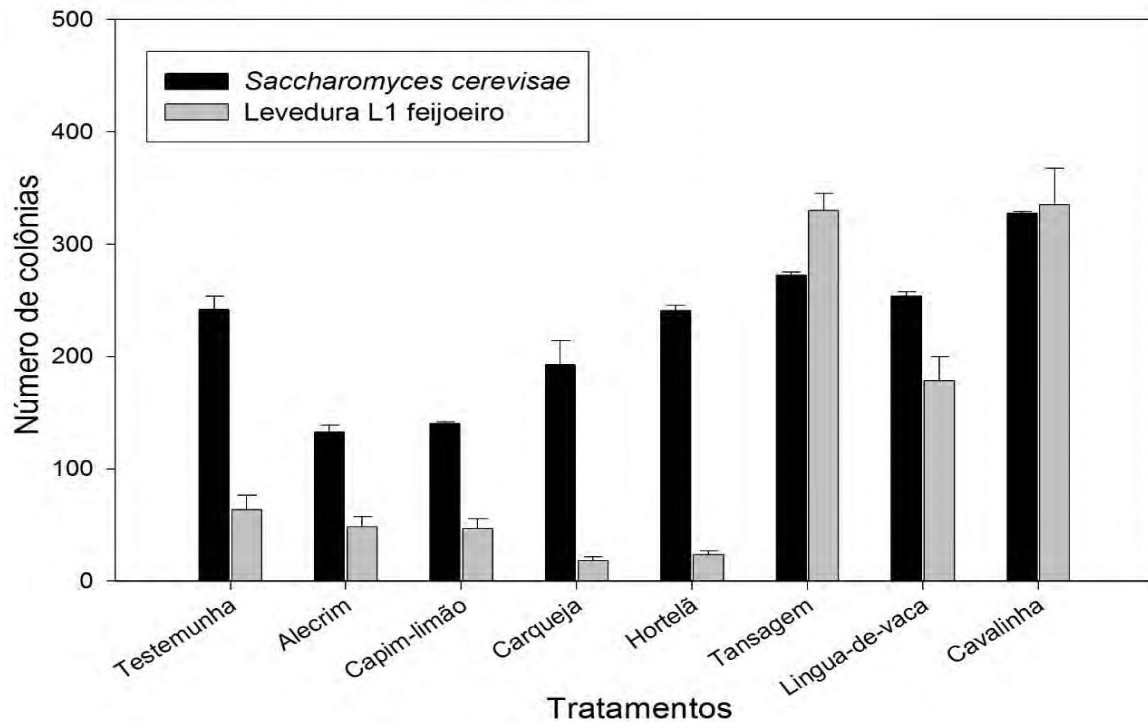


FIGURA 1. Efeito do extrato bruto aquoso de plantas medicinais sobre o número de colônias do isolado de levedura L1 e *Saccharomyces cerevisiae*.

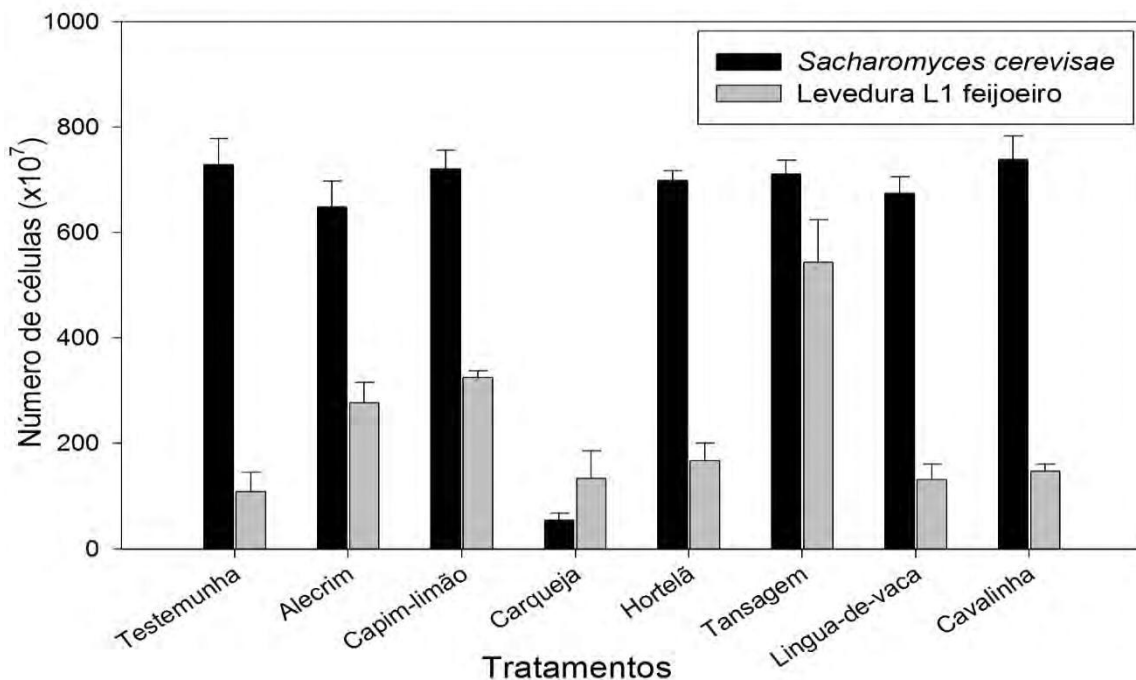


FIGURA 2. Efeito do extrato bruto aquoso de plantas medicinais sobre o número de células de leveduras do isolado de levedura L1 e *Sacharomyces cerevisiae*



Muitos extratos vegetais podem proteger as plantas à doenças apresentando atividade antimicrobiana e/ou ativando mecanismos de defesa (Stangarlin et al. 1999). Alguns trabalhos já tem mostrado a ausência de efeito inibidor sobre organismos benéficos, como o fungo *Trichoderma* (Brand et al. 2007). Essa característica torna-se muito importante para biodiversidade em agroecossistemas, pois além de auxiliar na proteção de plantas a doenças, podem afetar positivamente o desenvolvimento de organismos benéficos, entre os quais se destacam as leveduras.

Conclusões

Os extratos aquosos das plantas medicinais cavalinha, tansagem e língua-de-vaca não inibiram o crescimento das colônias de levedura de filoplano, indicando efeito positivo sobre essa microbiota potencialmente benéfica na superfície vegetal.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao apoio da Chamada 81/2013 MCTI/MAPA/MDA/MEC/MPA/CNPq e à CAPES pelo bolsa PNPD e recursos PROAP.

Referencias bibliográficas

- Brand, S. et al. (2007). Extrato de cancorosa (*Maytenus ilidifolia*) não inibe *Trichoderma* sp. Resumos do V CBA. Revista Brasileira de Agroecologia, v.2, n.2, p.1054-1057.
- Burg, I.C.; Mayer, P.H. (2006). Alternativas ecológicas para prevenção e controle de pragas e doenças. 30 ed. Francisco Beltrão: Grafit Gráfica e Editora Ltda, 153p.
- Fiori, A.C.G. et al. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. Journal of Phytopathology, v.148, n.78, p.483-487, 2000.
- Pinto, J.M.A. et al. (2010). Use of plant extracts in the control of common bean anthracnose. Crop protection, v.29, p.838-842.
- Lassois, L.; De Bellarie, L.; Jijakli, M. H. Biological control of crown rot of bananas with *Pichia anomala* strain K and *Candida oleophila* strain O. Biological Control. v.45, p410-418, 2008.
- Rosa-Magri, M.M.; Tauk-Tornisielo, S.M.; Ceccato-Antonini, S.R. Bioprospection of yeasts as biocontrol agents against phytopathogenic molds, Braz. Arch. Biol. Technol. v.54 n. 1: pp. 1-5, 2011.
- Schwan-Estrada, K.R.F.; Stangarlin, J.R.; Cruz, M.E.S. (2003). Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. Fitopatologia Brasileira, v.8, p. S54- S56.
- Silva, L.H.C.P.; Resende, M.L.V. Resistência induzida em plantas contra patógenos. In: SILVA, L.H.C.P.; Campos, J.R.; Nojosa, G.B.A. (Ed.). Manejo integrado de doenças e pragas em hortaliças. Lavras: UFLA, 2001. p. 221-234.
- Silva, M.B. et al. (2010). Extratos de plantas e seus derivados no controle de doenças e pragas. IN: Venzon, M.; Paula Júnior, T.J.; Pallini, A. Controle alternativo de pragas e doenças na agricultura orgânica. Viçosa: EPAMIG, Cap.3, p.33-54.
- Stangarlin, J.R. et al. Plantas Medicinai: plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento, v.11, p. 16-21. 1999.
- Vigo-Schultz, S.C. et al. (2006). Avaliação da eficácia da tintura etanólica de guaco (*Mikania glomerata*) no controle da podridão negra (*Xanthomonas campestris* sp. *campestris*) em couve-flor. Semina: Ciências Agrárias, v.27, n.4, 515-523.