

Efeito “In Vitro” Do Extrato Aquoso De Nim (*Azadirachta indica*) E Alho (*Allium sativum* L.) Em *Aspergillus niger*

*“In Vitro” Effect Of Aqueous Extract From Neem (*Azadirachta indica*) And Garlic (*Allium sativum* L.) On *Aspergillus niger**

SOUZA, Liane Santos Sales. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas – BA, salesliane@hotmail.com; SOARES, Ana Cristina Fermino. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Brasil, Cruz das Almas – BA, ferminosoaes@gmail.com

Resumo

Os cientistas têm buscado formas de diminuir o uso indiscriminado de agrotóxicos e uma alternativa que vem sendo alvo de estudos é a utilização de extratos aquosos de plantas medicinais. Este trabalho teve como objetivo de avaliar o efeito inibitório do nim (*Azadirachta indica*) e do alho (*Allium sativum* L.) em *Aspergillus niger*, agente etiológico da podridão vermelha no sisal. Foram avaliadas as concentrações de 1%, 5%, 10%, 15% e 20% de extrato aquoso de nim e alho. O extrato foi obtido por trituração e peneiramento de 200 g de folhas de nim e 200g de bulbilhos de alho com 1000 ml de água destilada, sendo este filtrado e misturada ao meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar), utilizado para multiplicação do fungo. O extrato de nim não inibiu o crescimento micelial de *A. niger*. O extrato de alho, nas concentrações acima de 5%, inibiu em 100% o crescimento micelial de *A. niger*.

Palavras-chave: Plantas medicinais. Controle. Podridão vermelha do sisal.

Abstract

*Scientists have been searching for ways to decrease the indiscriminate use of chemical inputs and an alternative that has been the aim of several studies is the use of medicinal plant extracts. This work aimed at evaluating the inhibitory effect of neem (*Azadirachta indica*) and garlic (*Allium sativum* L.) on *Aspergillus niger*, causal agent of sisal red rot disease. The concentrations of 1%, 5%, 10%, 15% and 20% of aqueous extract of neem and garlic were evaluated. The extract was obtained by blending and filtering 200 g of neem leaves and 200g of garlic bulbs with 1000 ml of distilled water. The extract was mixed with potato dextrose agar culture medium for growth of *A. niger*. Neem extract did not inhibit mycelium growth of *A. niger*. Garlic extract, in concentrations above 5% caused 100% inhibition of *A. niger* mycelium growth.*

Keywords: Medicinal plants. Control. Red rot disease.

Introdução

Atualmente é crescente a procura por produtos agroindustriais cultivados de forma orgânica, onde toda a cadeia produtiva deve ser isenta de produtos químicos ou com percentuais bem reduzidos, sendo estes indicados por órgãos responsáveis. O controle do uso indiscriminado de produtos fitossanitários faz-se presente em todos os debates a cerca de melhoria de qualidade de vida e preservação do ambiente.

A necessidade de diminuir a dependência por agrotóxicos na agricultura tem promovido inúmeros trabalhos de pesquisa visando o desenvolvimento de métodos alternativos de controle fitossanitário, adotando uma nova visão de agricultura que trata a natureza como um sistema vivo que reage a toda e qualquer interferência que altere a sua estrutura e funções (CAMPANHOLA; BETTIOL, 2003). Neste sentido, a utilização de extratos vegetais para o controle de fitopatógenos tem recebido destaque.

Resumos do VI CBA e II CLAA

Existe uma grande diversidade de substâncias nas plantas medicinais e a possibilidade de se encontrarem novas substâncias antifúngicas, as quais poderiam ser utilizadas diretamente pelo produtor, por meio do cultivo da planta "fungicida", preparo e aplicação direta do extrato na planta cultivada. Tendo ainda outra possibilidade de campo de pesquisa a identificação de substância(s) nos extratos vegetais, com característica fungicida, as quais podem servir de modelo para a síntese de novos fungicidas no futuro (CELOTO et al., 2008).

O alho (*Allium sativum* L) contém aliinase e aliina, que quando complexados, formam a alicina, substância que dá o aroma típico do alho e que funciona como meio de defesa para a planta, quando esta é atacada por patógenos. Os efeitos tóxicos da alicina estendem-se a diversos microorganismos, inativando-os (TALAMINI; STADNIK, 2004). Estudos comprovam que o óleo essencial de alho inibe o crescimento micelial de fungos do tipo *Aspergillus flavus* (VIEGAS et al., 2005), sendo necessários estudos com o extrato aquoso da planta.

O nim (*Azadirachta indica*) pertence à família Meliaceae e é originário da Índia, onde é usado há séculos na produção de madeira, como planta medicinal e ultimamente como inseticida. Muitos compostos ativos foram isolados da planta, dos quais se têm a salanina, azadiractina e nimbolina, entre outros (CARNEIRO, 2003). Esta planta vem sendo usada em vários experimentos para controle biológico de insetos e nematóides. Recentemente vem sendo intensificado o estudo para controle de fungos a exemplo de Sindhan, Hooda e Parashar (1999) que testaram o extrato de folhas de nim, produzido com folhas frescas moídas em água na proporção 1:1 (p/v), para controle do oídio em ervilha em casa de vegetação e obtiveram êxito. Trabalhos também demonstram que o uso de extrato aquoso de nim tem influência sobre outros patógenos foliares como *Sarcocladium*, *Fusarium*, *Phaeoisariopsis*, *Puccinia* e *Aspergillus*.

O *A. niger* causa a podridão vermelha do sisal, também conhecida como podridão do tronco no sisal (*Agave sisalana* Perrine), cultura que tem enorme importância social e econômica nas regiões semi-áridas do nordeste e que se constitui na principal fonte de renda para muitas famílias da região. No estado da Bahia, o sisal representa o segundo produto na pauta de exportação agrícola (SILVA; BELTRÃO, 1999). Entretanto, nas últimas décadas a cultura do sisal vem sofrendo com a elevada incidência da podridão vermelha do sisal, doença que causa a morte da planta e vem se disseminando, sem um eficiente método de controle.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito *in vitro* do extrato aquoso de nim (*A. indica*) e alho (*A. sativum* L) sobre *A. niger*, agente etiológico da podridão vermelha do sisal.

Metodologia

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), no Campus de Cruz das Almas, Bahia. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições e os seguintes tratamentos: concentrações de 1%, 5%, 10%, 15% e 20% e o controle apenas com o meio de cultura.

Foram utilizadas 200 g de folhas de nim (*A. indica*) e 200 g de bulbilho do alho (*A. sativum* L) para obtenção dos extratos aquosos, por meio de trituração em liquidificador com 1000 ml de água destilada por 3 minutos, obtendo-se a concentração de 20% (relação p/v). O extrato foi filtrado em peneira plástica, em funil de vidro contendo algodão estéril e por último em membrana de nitrocelulose Millipore (0,22 µm de diâmetro), sendo acondicionado em tubos centrifuga estéreis. O extrato aquoso do nim e de alho foi incorporado ao meio de cultura BDA (Batata-dextrose-água), depois de esterilizado em autoclave, quando o meio se encontrava na temperatura próxima ao ponto de solidificação. As concentrações de 1, 5, 10, e 15% foram obtidas misturando o

Resumos do VI CBA e II CLAA

extrato aquoso obtido esterilizado ao meio de cultura BDA (batata-dextrose-agar). O fungo *A. niger*, isolado de plantas de sisal com sintomas de podridão vermelha do caule, foi multiplicado em meio BDA por sete dias a temperatura ambiente ($28\pm 2^\circ\text{C}$) e discos de micélio com 5 mm de diâmetro foram transferidos para as placas de Petri contendo o meio BDA com as diferentes concentrações dos extratos aquosos. As culturas foram incubadas em câmara de crescimento tipo BOD por 15 dias a uma temperatura de $28\pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 h. Mediu-se o diâmetro das colônias do fungo, em intervalos de três dias. Para a obtenção dos esporos as placas de Petri foram raspadas com alça de Drigalski, 20 ml de água destilada estéril e duas gotas de **Tween 20**, em seguida a suspensão foi transferida para câmara de Neubauer para a contagem de esporos. Os resultados foram submetidos à análise de variância e de regressão, utilizando-se o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000).

Resultados e discussões

Em todas as concentrações avaliadas para o extrato aquoso de nim, não se obteve efeito inibitório significativo do crescimento micelial de *A. niger* (Tabela 1), como evidenciado em outros trabalhos (MOSSINI, 2006). O extrato aquoso de nim na concentração de 20% inibiu em 19,56% a esporulação do *A. niger*.

TABELA 1. Médias do diâmetro de colônias de *Aspergillus niger*, multiplicado em meio BDA com extrato aquoso de nim (*A. indica*) e alho (*A. sativum* L), Cruz das Almas, Bahia, 2009.

Concentrações do extrato	Diâmetro de colônias em extrato de nim	Diâmetro de colônias em extrato de alho
0% (controle)	8,0 a	7,0 a
1%	7,1 a	4,3 a
5%	6,2 a	0 b
10%	6,8 a	0 b
15%	7,6 a	0 b
20%	6,1 a	0 b

*Médias seguidas de mesma letra, não diferem significativamente entre si segundo Tukey (5%).

Entretanto, as concentrações acima de 5% do extrato aquoso de alho causaram 100% de inibição do crescimento micelial de *A. niger* (T1). Na concentração de 1% o extrato inibe em 45,7% a esporulação do fungo estudado. Araújo et al. (2009) observaram inibição completa com extrato aquoso de alho a 10% obtido por infusão na esporulação de *A. ochraceus* e *Rhizopus stolonifer*. Estudos futuros deverão avaliar o efeito do extrato de alho no controle da podridão vermelha em plantas de sisal.

Conclusões

O extrato aquoso de nim não inibe o crescimento do fungo *A. niger* que causa podridão vermelha o sisal. O extrato aquoso de alho inibe em 100% o crescimento micelial de *A. niger* nas concentrações acima de 5%, apresentando potencial para o controle da podridão vermelha do sisal.

Referências

ARAUJO, R. C. Z. et al. Avaliação in vitro da atividade fungitóxica de extratos de condimentos na inibição de fungos isolados de pães artesanais. *Ciência e agrotecnologia*, Lavras, v. 33, n. 2, 2009.

CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. *Métodos alternativos de controle fitossanitário*. Jaguariúna:

Resumos do VI CBA e II CLAA

EMBRAPA Meio Ambiente, 2003. 279 p.

CARNEIRO, S. M. de T. P. G. Efeito de extratos de folhas e do óleo de nim sobre o oídio do tomateiro. *Summa Phytopathologica*, v. 29, n. 3, 2003.

CELOTO, M. I. B. et al. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. *Acta Sci. Agron.*, Maringá, v. 30, n. 1, p. 1-5, 2008.

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR (Sistema para análise de variância) para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. *Programas e Resumos...* São Carlos: UFSCar, 2000. p-255-258.

MOSSINI S. A. G. *Efeitos de extratos de Azadirachta indica A. Juss (Meliaceae) na produção de micotoxinas e na morfologia de fungos toxigênicos*. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2006. Disponível em: <www.pbc.uem.br/mossini2006.pdf>. Acesso em: 15 jun. 2009.

SILVA, O. R. R. F. da; BELTRÃO, N. E. de M. *O agronegócio do sisal no Brasil*. Brasília: EMBRAPA – SPI, 1999. 205 p.

SINDHAN, G. S.; HOODA, I.; PARASHAR, R. D. Evaluation of plant extracts for the control of powdery mildew of pea. *Journal of Mycology and Plant Pathology*, New Delhi, v. 29, n. 2, p. 257-258, 1999.

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: CCA/UFSC, 2004. p. 45-62.

VIEGAS, E. C. et al. Toxicidade de óleos essenciais de alho e casca de canela contra fungos do grupo *Aspergillus flavus*. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 23, n. 4, p. 915-919, out./dez. 2005.