

## Controle “*in vitro*” da murcha bacteriana no tomateiro utilizando os extratos de alho, hortelã e pimenta dedo-de-moça.

RIBEIRO, L.F.C. <sup>(1)</sup>; SANTOS, C. S. <sup>(2)</sup>; HEMKEMEIER, S <sup>(2)</sup>, Müller, K. É. <sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> Professor, Dep. de Agronomia, UNEMAT -Alta Floresta; e-mail: [luizribeiro@unemat.br](mailto:luizribeiro@unemat.br); <sup>(2)</sup> Acadêmica do curso de Agonomia, UNEMAT-Alta Floresta; <sup>(3)</sup> Acadêmica do curso de Ciências Biológicas, UNEMAT-Alta Floresta.

### Resumo

O tomateiro tem grande importância econômica e nutricional, no entanto é uma cultura de elevado risco econômico, pois doenças como a murcha bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum* vem dificultando sua produção. Considerando a grande importância econômica desta cultura, a pouca eficiência do controle convencional na redução dos prejuízos causados pelo patógeno e a crescente preocupação em se desenvolver novas tecnologias através do uso de produtos naturais eficientes no controle de doenças de plantas, desenvolveu-se esta pesquisa cujo objetivo foi avaliar o efeito de extratos de alho, cebola, hortelã e pimenta para o controle da doença. Foram preparados extratos vegetais nas concentrações de 1%, 5%, 10%, 20% e 50%, para avaliar a eficiência de controle de crescimento de unidades formadoras de colônia (u.f.c) em comparação com o controle químico representado pelo uso de tetraciclina. Todos os extratos aquosos usados apresentaram efeito positivo no controle das unidades formadoras de colônia de *Ralstonia solanacearum in vitro*. Os tratamentos nas concentrações de 50% apresentaram o melhor resultado para todos os extratos. O extrato de alho nas concentrações de 50 e 20% apresentou o melhor efeito bacteriostático para o crescimento da colônia murcha bacteriana.

**Palavras-chave:** Unidades Formadoras de Colônias, extratos aquosos, controle natural.

### Introdução

O tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) é a hortaliça mais consumidas no mundo, precedida apenas pela batata e cebola. O centro de produção agrícola de tomate no Brasil encontra-se na região [Sudeste](#) e [Centro-Oeste](#). Estima-se que a produção anual [brasileira](#) seja de três milhões de toneladas, dos quais dois milhões de toneladas, ou cerca de 77% da produção seja para seu consumo *in natura*, sendo o restante utilizado para o processamento de sua polpa, normalmente feito a partir de tomates rasteiros.

Apesar da importância econômica e nutricional do tomateiro, o cultivo dessa solanacea é de elevado risco econômico devido a ocorrência de doenças, pré e pós-colheita dentre as quais se destacam aquelas causadas por vírus, fungos, bactérias e nematóides.

Dentre as doenças de etiologia bacteriana a Murcha Bacteriana, causada pela *Ralstonia solanacearum* (Smith), é a que tem causado prejuízos significativos na cultura do tomateiro. É uma das doenças mais importante do tomateiro e de outras solanáceas, principalmente em cultivos sob temperatura elevadas, como

ocorre normalmente nas regiões Norte e Nordeste e em áreas de baixa altitude das regiões Sudeste e Centro-Oeste do Brasil (LOPES, 1994).

Bringel et al. (2002) destaca que as perdas na produção causadas pelo ataque da bactéria variam de 10 a 100%. Consiste em uma bactéria sistêmica e os seus efeitos são decorrentes da ação mecânica, resultando em entupimento dos vasos ou por ação de metabólitos lançados na seiva. Os sintomas iniciais caracterizam-se por escurecimento da região vascular, mais visível na região próxima ao colo, murcha de folíolos e epinastia foliar, podendo haver recuperação das plantas nas horas mais frescas do dia. Com a progressão da doença, esse quadro de murcha afeta a planta toda, podendo ocorrer à morte da planta infectada (BERGAMIN FILHO et al., 1995).

As medidas de controle recomendadas para a doença compreendem a rotação de culturas, pousio, incorporação dos restos culturais, utilização de cultivares resistente e tratamento com fungicidas, que não apresentam efeitos significativos em virtude da grande variabilidade do patógeno (NASCIMENTO et al., 2006). O uso de produtos químicos em longo prazo causa impactos negativos para a sociedade e meio ambiente, pois estes produtos deixam resíduos químicos; provocam resistência dos microorganismos patogênicos, e muitas vezes o período de carência não é respeitado pelo produtor.

Visando o desenvolvimento de novas metodologias de controle, o uso de produtos naturais eficientes no controle de doenças de plantas tem se destacado. O emprego de extratos vegetais como biocontroladores é comumente utilizado na agricultura orgânica. Com o intuito de estudar a viabilidade do controle através de extratos naturais o presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana “*in vitro*” de extratos aquosos de alho, cebola, hortelã e pimenta no controle do agente etiológico da murcha bactéria no tomateiro”.

## Metodologia

O experimento foi realizado no ano de 2008, no Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da UNEMAT (Universidade do Estado de Mato Grosso), localizada na MT 208, Km 143, no município de Alta Floresta/MT. Os isolados de *Ralstonia solanacearum* foram cedidos pelo Laboratório de Procariotos Fitopatogênicos da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, localizada em Piracicaba, São Paulo. Os isolados foram cultivados em meio de cultura Batata -Dextrose-Ágar. Para a preservação, os isolados foram cultivados em meio BDA, em tubos de ensaios, durante três dias a  $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Após esse período, as culturas bacterianas foram cobertas com óleo mineral esterilizado, até uma altura de aproximadamente dois centímetros acima do meio de cultura. Os tubos foram fechados com tampões de algodão, vedados com filme plástico e armazenados, na posição vertical, à temperatura ambiente.

Para a obtenção dos extratos vegetais, foram utilizadas folhas de hortelã e mamona, bulbilhos de alho e frutos de pimenta. Para extração, foram pesados 5g de material vegetal, o qual foi triturado em 50ml de água destilada esterilizada, durante 10 minutos, em um processador. A seguir o material foi filtrado em papel de filtro (Whatman nº1) e, posteriormente, em membrana filtrante de porosidade de 0,45mm. Os extratos aquosos foram utilizados imediatamente após sua obtenção.

Os diferentes extratos, individualmente, foram adicionados ao meio de BDA de modo a se obter concentrações de 1%, 5%, 10%, 20% e 50%, onde cada concentração representou um tratamento. O tratamento positivo, representado pelo controle químico com tetraciclina utilizou-se as mesmas percentagens. Placas de petri

contendo somente BDA serviram como testemunhas. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC) com sete tratamentos e com cinco repetições. A bactéria foi repicada pipetando-se uma alíquota de 0,1 mL de suspensão contendo  $10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>, sendo então incubada a 25°C, por 48 h, sob agitação. A avaliação do número de bactérias foi em espectrofotômetro com comprimento de onda de 580 nm.

A curva de crescimento bacteriano foi obtida pelo método de determinação da concentração do inóculo pela contagem em placas de Petri (MARIANO & ASSIS, 2000). Foram ajustadas suspensões bacterianas (em solução salina – NaCl 0,85%) para obtenção de leituras de absorbância a 580 nm de 2,4; 2,0; 1,6; 1,2; 0,8 e 0,4. Para as absorbâncias 2,4; 2,0 e 1,6 foram realizadas diluições de até  $10^8$  e, para as demais absorbâncias diluições de até  $10^7$ , tendo sido plaqueados 100 mL das três últimas diluições no meio BDA. O cálculo da concentração da suspensão foi efetuado com base no número de unidades formadoras de colônias (UFC). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) para comparação das médias, com o auxílio do software SISVAR.

### Resultados e discussões

Todos os extratos testados demonstraram propriedades antibacterianas, sendo que somente os extratos de pimenta e hortelã na concentração de 1% apresentaram um número elevado de UFC, sendo acima do número apresentado na testemunha (60 e 82 UFC respectivamente). Comparando todos os extratos entre si e com a tetraciclina, verificou-se que a tetraciclina, nas concentrações de 50%, 20% e 10% foram as mais eficientes. No entanto, esses resultados não diferiram estatisticamente do extrato de pimenta na concentração de 50%, alho nas concentrações de 50% e 20% e cebola nos extratos de 10 a 50%. A eficiência dos controles avaliados está correlacionada significativamente ( $R^2 = 0.8726, 0.9616$  e  $0.7840$ ), respectivamente para os controles de pimenta, alho e cebola. Tendo assim como alternativa viável, a utilização de extratos naturais de pimenta dedo-de-moça, cebola e alho, nas concentrações de 50% e 20%, substituindo o controle químico, garantindo uma menor degradação do meio ambiente nos sistemas agrícolas.

Na literatura há vários trabalhos que comprovam os efeitos antibacterianos de extratos vegetais, principalmente do alho. Neste trabalho é reforçada esta sua propriedade, juntamente com a demonstração da atividade de outros extratos como o de cebola, pimenta e hortelã. Para o extrato de hortelã, Boita (2008), em seu trabalho determinou que o experimento não apresentou resultados satisfatórios no controle de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflora*, obtendo-se resultado semelhante para o controle de *Rastonia solanacearum*, que pode ser observado na Tabela 1. Pode-se notar que a eficiência dos extratos de alho e cebola na concentração de 1% apresentou o mesmo número de unidades formadoras de colônias em relação a tetraciclina na mesma concentração de 1%. O efeito tóxico do alho sobre o crescimento de bactérias fitopatogênicas tem sido demonstrado em outros trabalhos. Boita, (2008), demonstra que o tratamento com extrato aquoso de alho apresentou eficiência no controle, “*in vitro*”, do número de colônia formadas de *Xanthomonas campestris* pv *passiflora*, nas concentrações de 1,0 e 10%.

TABELA 1. Efeito de diversos extratos vegetais incorporados em diversas concentrações em BDA, sobre o crescimento *Xanthomonas campestris* pv *campestris* medido através das unidades formadoras de colônia com 5 dia de idade.

	Concentração em Porcentagem					Testemunha
	1	5	10	20	50	
Alho	19b	13b	10a	04a	03a	44d

Hortelã	82f	35d	33d	25c	12b	44d
Cebola	13b	13b	07a	07a	06a	44d
Pimenta Dedo de moça	60e	21c	13b	12b	05a	44d
Tetraciclina	13b	13b	05a	00a	00a	44d

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Tukey. Valor do Coeficiente de Variação = 5.29 %.

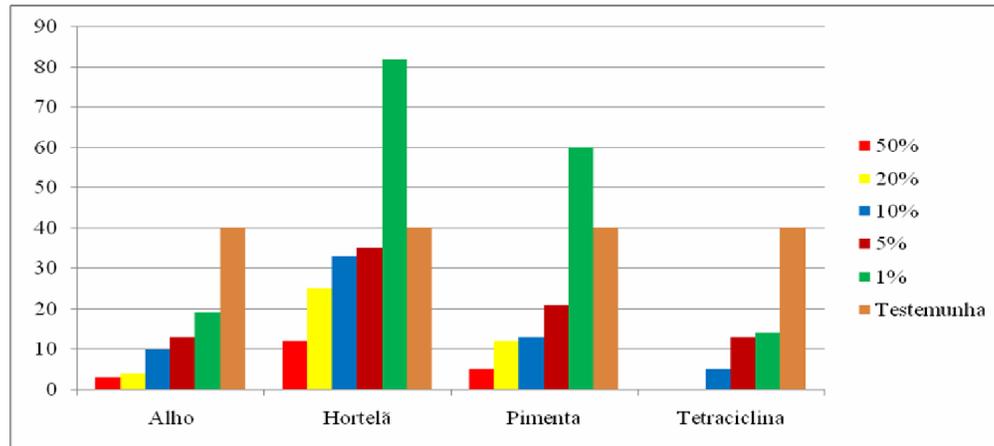


Figura 1. Avaliação dos extratos sobre o crescimento de U. F. C de *Ralstonia solanacearum* (Smith).

## Conclusões

Todos os extratos aquosos usados apresentaram efeito positivo no controle das unidades formadoras de colônia de *Ralstonia solanacearum in vitro* em meio líquido. Os tratamentos nas concentrações de 50% apresentaram o melhor resultado para todos os extratos. O extrato de alho nas concentrações de 50 e 20% apresentou o melhor efeito bacteriostático para o crescimento da colônia bacteriana estudada. O extrato de pimenta apresentou o segundo melhor resultado, seguido pelo extrato de cebola. O extrato de hortelã foi o que obteve os menores resultados, mas todos os extratos utilizados podem ser utilizados no controle da murcha bacteriana do tomateiro, podendo ser feito rodízio entre os extratos.

## Referências

BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L.; **Manual de Fitopatologia volume1: Princípios e Conceitos**. 3ª edição - São Paulo. Editora Agronômica Ceres, 1995. 919 p.

BOITA, D.C. **Efeito inibitório de extratos vegetais aquosos sobre Xanthomonas campestris pv. Passiflorae – agente causal da mancha bacteriana do maracujazeiro**. Alta Floresta, UNEMAT, 2008.

LOPES, C. A., SANTOS, J.R.M. dos. **Doenças do tomateiro**. Brasília: EMBRAPA-CNPQ: EMBRAPA-SPI, 1994. 61 p.

NASCIMENTO, L. C. S.; SILVA, T. A.; ORLANDA, J. F. F. **Atividade antimicrobiana in vitro de extratos vegetais de *Solanum pniculatum* L. sobre o crescimento de *Ralstonia solanacearum***. 2006.



Disponível em <<http://www.abq.org.br/cbq/2006/trabalhos2006/13/36-IC-505-690-13-T1.htm>> Acessado em: 08 out. 2008, as 9: 35: 25 h.