

Modalidade do trabalho: TRABALHO DE PESQUISA
Eixo temático: CIÊNCIAS DA NATUREZA

USO DA TABERNAEMONTANA CATHARIENSIS COMO CONTROLE QUÍMICO ALTERNATIVO¹

Maria Eduarda Schmidt², Matheus Giesel Dörr³, Samara Veiverberg⁴, Felipe Ketzner⁵

¹ Trabalho de Pesquisa

² Aluna do Instituto Federal Farroupilha- Campus Panambi

³ Aluno do Instituto Federal Farroupilha- Campus Panambi

⁴ Aluno do Instituto Federal Farroupilha- Campus Panambi

⁵ Professor do Instituto Federal Farroupilha-Campus Panambi

Introdução

O controle químico de pragas em plantas é o método mais utilizado por produtores, visto que plantas de fácil cultivo, como hortaliças em geral, são, em um alto nível, vulneráveis a agentes fitopatogênicos. Desta maneira, este controle é a única medida eficiente e economicamente viável de garantir boa produtividade e qualidade de produção. Na mesorregião onde o IF Farroupilha Campus Panambi está inserido, têm-se notáveis problemas com culturas alimentícias em geral por conta do mofo (presente em decorrência do clima úmido – especificamente subtropical úmido), principalmente em hortaliças. A contaminação deles acarreta, então, significativas perdas da produção, sendo necessário o uso de controladores químicos específicos.

É de conhecimento popular que agrotóxicos podem causar sérios danos aos seres humanos e ao meio ambiente se utilizados de maneira incorreta. Como exemplo, é evidenciado em um levantamento realizado por Zaffari e Borba (2015), que identificou que o fungicida Dithane® NT é o mais utilizado no cultivo geral de videiras. De acordo com Preza e Augusto (2012), grande parte de seu uso é feito inadequadamente no controle químico de hortaliças (ao qual não é recomendado), pois possui grande toxicidade, sendo assim, um risco à saúde humana por se apresentar tóxico em demasia. A exemplo do Dithane® NT, existem inúmeros fungicidas utilizados amplamente e com altos prejuízos à saúde humana e ambiental. Sendo assim, torna-se necessária a busca por formas alternativas e menos danosas de controle químico de pragas. A partir de tais considerações, tomou-se a ideia de um projeto de pesquisa cujo foco é a produção, a partir de uma planta, de um simples e seguro extrato alcoólico – podendo ser produzido pelo próprio pequeno agricultor – capaz de eliminar ou reduzir os efeitos destes agentes microbiológicos – fungos – sem acarretar danos maiores à vida ou meio ambiente.

A proposta é a utilização de uma planta local de nome científico *Tabernaemontana catharinensis*, a

Modalidade do trabalho: TRABALHO DE PESQUISA

Eixo temático: CIÊNCIAS DA NATUREZA

qual é conhecida popularmente como cobraína ou leiteiro de vaca, sendo uma árvore nativa do sul do continente americano. Seu uso por benzedores e mateiros na região das Missões é feito há mais de 400 anos (encontrados em escritos jesuítas sobre plantas medicinais com base de relatos indígenas), principalmente usada em feridas, mordidas de insetos, entre outros. Espécies de *Tabernaemontana* são bem conhecidas pela bioprodução de triterpenos (ZHU *et al*, 1990; *apud* GONÇALVES, 2011, p. 15) – usados em fitoterápicos, compostos vitamínicos e inseticidas – e alcaloides indólicos, principalmente os monoterpênicos. Estes alcaloides do tipo indólicos monoterpênicos são responsáveis pela maioria das atividades farmacológicas relacionadas com o gênero, dais quais pode-se destacar: antileishmaniose, antibacteriana (...) (VAN BEEK *et al*, 1988; VIEIRA *et al*, 2008; FIGUEIREDO, 2005; *apud* GONÇALVES, 2011, p. 15)

Apesar de a árvore cobraína ser nativa da região sul-americana, ela não está muito presente nas áreas de vegetação locais, seja urbana ou rural. Então, se validada a pesquisa, seria possível estimular o seu uso como biofungicida e, conseqüentemente, seu plantio, ajudando na preservação da espécie.

Metodologia

Os procedimentos descritos foram realizados nos laboratórios de Química e de Microbiologia presentes nas dependências do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Farroupilha, Campus Panambi. A primeira prática foi a produção de dois extratos alcoólicos, sendo um feito a partir das folhas e outro a partir da casca da cobraína, tendo o álcool etílico como solvente. Os materiais de laboratório utilizados foram: balança analítica, micromoinho, béquer de 250mL e um Erlenmeyer de 250mL. Os materiais reagentes foram: folhas de cobraína, cascas de cobraína e etanol 96°GL. Iniciando o procedimento, pesaram-se aproximadamente 3 gramas de folhas de cobraína, em uma balança analítica. Em seguida, um micromoinho foi utilizado para reduzir o tamanho das folhas de cobraína, durante aproximadamente 30 segundos. As folhas moídas foram adicionadas a um Erlenmeyer de 250mL e juntadas a aproximadamente 250mL de etanol 96°GL. O extrato feito a partir da casca de cobraína seguiu a mesma metodologia.

Como os extratos foram produzidos com a função de atacar os fungos causadores de danos em plantas, a prática se voltou para a inoculação de Placas de Petri, as quais continham, previamente, um meio de cultura específico para o desenvolvimento de fungos (Sabouraud Dextrose Agar), permitindo assim a proliferação de tais microrganismos. Para tal procedimento, foi recolhido material biológico proveniente de seis plantas diferentes que continham, visualmente, lesões provocadas por fungos. No laboratório, os materiais utilizados foram: capela, luvas, tesoura e pinça, os quais foram previamente esterilizados com álcool 70°GL, além de uma lamparina. Dentro da capela, com a lamparina acesa para manter o ambiente

Modalidade do trabalho: TRABALHO DE PESQUISA

Eixo temático: CIÊNCIAS DA NATUREZA

estéril, foi utilizada a tesoura para cortar, na planta, a parte infectada e com a pinça colocamos o material biológico dentro da Placa de Petri, a fechando novamente. O procedimento foi realizado com todas as amostras de plantas, totalizando vinte Placas de Petri inoculadas.

Analisando estas Placas de Petri inoculadas, observou-se que em todas elas ocorreu o desenvolvimento de fungos, sendo que em cinco delas, em determinados locais das placas, a proliferação dos fungos partia, visualmente, da lesão existente na planta. As placas foram identificadas e utilizadas para dar prosseguimento às práticas, onde o objetivo passou a ser, em novas Placas de Petri, observar os efeitos, ou não, dos extratos sobre o crescimento dos fungos. Sendo assim, o material de laboratório utilizado para dois procedimentos com esta mesma metodologia foram as 38 novas Placas de Petri já contendo o meio de cultura (Sabouraud Dextrose Agar), a alça de inoculação, a pipeta de Pasteur, a capela, a lamparina e luvas. Os materiais reagentes utilizados foram o extrato da folha de cobra, o extrato da casca de cobra e amostras de fungos.

Foram colocadas na Placa de Petri, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, algumas gotas de extrato e, dentro da capela, com uma alça de inoculação, foi retirada uma amostra de fungo e inoculada tal Placa de Petri, no lado oposto àquele em que foi colocado o extrato. O procedimento foi realizado nas 38 Placas de Petri, alternando a amostra da qual o fungo era proveniente, o tipo e a quantidade de extrato. Para o procedimento posterior, utilizaram-se as mesmas amostras de fungos da inoculação das Placas de Petri nos dois procedimentos anteriores. Os materiais de laboratório utilizados foram: alça de inoculação, microscópio óptico e lâminas. Com a alça de inoculação, colocaram-se, em cinco lâminas diferentes, cinco amostras de fungos, as quais foram observadas na lente objetiva com aumento de 40x do microscópio.

De maneira adicional, o foco dos procedimentos se voltou para os extratos produzidos. Visando uma maior eficácia de tais produtos, além da tentativa de comprovação de que a cobra tem capacidade de inibição fúngica, ambos os extratos foram concentrados. Para tanto, foram utilizados os seguintes materiais de laboratório: evaporador rotativo e proveta graduada. Tendo os extratos como materiais reagentes, utilizou-se 50mL de cada extrato (casca e folha); o extrato foi colocado em um balão volumétrico de fundo redondo, acoplado a uma bomba de vácuo, estando o equipamento a uma pressão de 460mmHg. A evaporação do etanol presente nos extratos se deu entre 55°C e 57°C.

Dando continuidade aos testes, foram feitas novas inoculações em Placas Petri, com uma metodologia díspar, se comparada às iniciais. Sendo assim, utilizaram-se 18 Placas de Petri, todas contendo o meio de cultura (Sabouraud Dextrose Agar). Destas 18 Placas, em duas delas foi colocado etanol 96°GL, quatro Placas não receberam nenhum material, em seis Placas foram colocados os extratos da folha e da

Modalidade do trabalho: TRABALHO DE PESQUISA

Eixo temático: CIÊNCIAS DA NATUREZA

casca, ambos concentrados, sendo três de cada tipo de extrato e, por fim, outras seis Placas receberam os extratos da folha e da casca, ambos não concentrados, sendo três de cada tipo de extrato. As quantidades de extrato e álcool utilizadas foram de 1mL em cada Placa de Petri. Após alguns dias de repouso à temperatura ambiente, todas as 18 Placas de Petri foram inoculadas, colocando-se a amostra do fungo no centro de cada Placa de Petri. Tais amostras de fungo utilizadas foram provenientes de uma mesma Placa de Petri, por esta apresentar, visualmente, uma proliferação de tais microrganismos mais homogênea, não dando indícios de contaminação. De acordo com igual metodologia foi feita a última prática, desta vez inoculando-se 20 Placas de Petri, onde duas Placas continham apenas o meio de cultura, duas Placas continham etanol 96°GL, cinco Placas continham extrato de folha não concentrado, quatro Placas continham extrato de folha concentrado, quatro Placas continham extrato de casca não concentrado e três Placas continham extrato de casca concentrado. As amostras de fungo para tais inoculações foram retiradas de uma mesma Placa de Petri.

Resultados e discussão

Com a observação das estruturas de frutificação das amostras, em microscópio ótico, foi possível a distinção de dois fungos, o *Rhizopus* e o *Alternaria* (causador de moléstias em plantas), como identificado na Figura 1.

Figura 1. Fungos identificados no tratamento de amostras *Rhizopus* (esquerda) e *Alternaria* (direita).



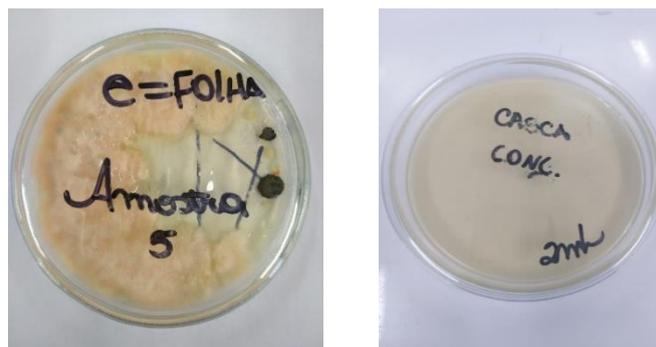
A partir das práticas iniciais, verificou-se a proliferação dos fungos em todas as Placas de Petri que foram inoculadas, consistindo no primeiro objetivo da pesquisa, como é possível observar-se na Figura 2(a). Em relação à capacidade de inibição de crescimento dos fungos por parte dos extratos, observaram-se em algumas Placas resultados positivos, onde, visualmente, a proliferação de tais microrganismos era freada pela presença do extrato. Já em outras, resultados não assertivos, devido à proliferação ter se espalhado por toda a extensão da Placa. Entretanto, de acordo com observações feitas em relação à testes mais recentes, onde a metodologia foi, em partes, destoante daquela usada inicialmente, foi possível contemplar que o

Modalidade do trabalho: TRABALHO DE PESQUISA

Eixo temático: CIÊNCIAS DA NATUREZA

crescimento fúngico se mostrou diminuído frente à presença do extrato, como nota-se na Figura 2(b).

Figura 2. a) Inoculação da Amostra 5 (esquerda); b) Baixa taxa de crescimento no teste com *Alternaria* (direita)



Sendo assim, a partir dos testes realizados até o momento, não é possível comprovar a eficácia dos extratos produzidos, bem como qual extrato se apresenta de maneira mais eficiente ou qual a quantidade e concentração de extrato ideal para a completa inibição, mas nota-se que, devido aos últimos resultados, existe um potencial princípio ativo na *Tabernaemontana catharinensis* em relação à inibição de tais microrganismos. Com a observação e análise das placas, conseguimos quantificar os resultados em números e dados, evidenciados na Tabela 1.

Tabela 1. Valores quantificados em relação a cada metodologia proposta no teste com *Alternaria*.

Metodologias	Área média (mm ²)	% Média das áreas das Placas
Controle Negativo	3136,29	44,24
Controle Negativo + Etanol (1,5mL)	413,31	5,83
Extr. Folha (1,5mL)	86,98	1,22
Extr. Folha (2mL)	123,50	1,74
Extr. Casca (1,5mL)	159,04	2,24
Extr. Casca (2mL)	0	0
Extr. Folha Conc. (1,5mL)	130,55	1,84
Extr. Folha Conc. (2mL)	0	0
Extr. Casca Conc. (2mL)	0	0

Considerações finais

O trabalho buscou avaliar a eficiência de um fungicida natural. Até a etapa atual de execução do projeto, foi possível concluir que os extratos produzidos ainda não apresentaram eficácia assertiva. No entanto, as práticas terão continuidade com o objetivo de chegar a um resultado, em potencial, concreto. Pesquisando a fundo sobre o tema, fora encontrado que, de acordo com BRUM *et al.* (2016), a DL₅₀ da

Modalidade do trabalho: TRABALHO DE PESQUISA

Eixo temático: CIÊNCIAS DA NATUREZA

Tabernaemontana catharinensis pôde ser estimada entre 2000/5000 mg/kg, elencando-a à categoria 5, sendo então, de baixa toxicidade. Isso indica que a planta, objeto de estudo, pode sim fornecer um futuro uso adequado dos extratos, sem causar danos ao meio ambiente, assim como à saúde humana, no eventual uso destes em plantas de consumo, como hortaliças, frutas, entre outros.

Referências

GONÇALVES, M. S. **Constituintes Químicos da “*Tabernaemontana catharinensis*” (Apocynaceae).** Campos dos Goytacazes, RJ: 2011. 273p.

ZAFFARI, E. A.; BORBA, R. S. **Levantamento dos Principais Fungicidas e Inseticidas Comercializados pelas Agropecuárias de Bento Gonçalves para Utilização na Cultura da Videira.** *Scientia Agraria Paranaensis*, Marechal Cândido Rondon, PR, vol. 15, n. 4, p. 385-390, out/dez, 2016.

BRUM, E. S.; MOREIRA, L. R.; DA SILVA, A. R. H.; BOLIGON, A. A.; CARVALHO, F. B.; ATHAYDE, M. L.; BRANDÃO, R.; OLIVEIRA, S. M. ***Tabernaemontana catharinensis* Ethyl Acetate Fraction Antinociceptive Activity without Causing Toxicological Effects in Mice.** *Journal of Ethnopharmacology*, junho, 2016.

PREZA, D. L. C.; AUGUSTO, L. G. S. **Vulnerabilidades de Trabalhadores Rurais Frente ao Uso de Agrotóxicos na Produção de Hortaliças em Região Nordeste do Brasil.** *Revista Brasileira de Saúde Ocupacional*, São Paulo, SP, vol. 37, n. 125, p. 89-98, junho, 2012.