

13995 - Avaliação in vitro da atividade biofúngica de óleo essencial e extratos aquosos, etanólicos e hidroetanólicos sobre o fitopatógeno *Fusarium spp.*

In vitro activity biofungicide essential oil and aqueous extracts, ethanolic and hydroethanolic on the plant pathogen Fusarium spp.

PANSERA, Marcia¹ R.; MELERE, Patricia² M.; RIBEIRO, Rute³ T. S.; SARTORI, Valdirene⁴ C.

1Universidade de Caxias do Sul, marcia.pansera@ucs.br; 2Universidade de Caxias do Sul, patymelere@gmail.com; 3Universidade de Caxias do Sul, rute.bio@gmail.com; 4Universidade de Caxias do Sul, vcsartor@ucs.br

Resumo

A utilização de defensivos químicos para o controle de fungos fitopatogênicos tem causado degradação do ambiente. Sendo assim, os agentes de biocontrole, como os extratos vegetais e os óleos essenciais entram nesta categoria. Este trabalho teve como objetivo, avaliar *in vitro* o potencial de inibição dos extratos aquoso, etanólico e hidroetanólico das plantas *Coronopus didymus*, *Pothomorphe umbellata*, *Bidens pilosa* e *Punica granatum* e do óleo essencial da *P. umbellata* sobre o fitopatógeno *Fusarium spp.* Os extratos foram testados nas concentrações 5%, 10%, 15% e 20% e o óleo essencial nas concentrações 0,01; 0,05; 0,10; 0,15 e 0,20%. Os extratos hidroetanólicos e aquosos não demonstraram diferença significativa. Ao contrário do extrato etanólico do *P. granatum* e do óleo essencial de *P. umbellata* que nas concentrações 20% e 0,2% respectivamente, houve inibição total do fitopatógeno *Fusarium spp.*

Palavras-chave: controle alternativo; doenças de plantas, microrganismos fitopatogênicos.

Abstract: The use of chemical pesticides to control of phytopathogenic fungi has caused environmental degradation. Thus, the biocontrol agents, such as plant extracts and essential oils fall into this category. This study aimed to evaluate the potential *in vitro* inhibition of aqueous, ethanolic and hydroethanolic of plants *Coronopus didymus*, *Pothomorphe umbellata*, *Bidens pilosa* and *Punica granatum* and essential oil *P. umbellata* on the pathogen *Fusarium spp.* The extracts were tested at concentrations of 5%, 10%, 15% and 20% and the essential oil at 0.01, 0.05, 0.10, 0.15 and 0.20%. The hydroethanolic and aqueous extracts showed no significant difference. Unlike the ethanol extract of *P. granatum* and essential oil *P. umbellata* higher concentrations 20% and 0.2% respectively, there was complete inhibition of the pathogen *Fusarium spp.*

Keywords: alternative control, plant diseases, pathogenic microorganisms.

Introdução

Atualmente, vários óleos essenciais e extratos vegetais extraídos de ervas, apresentam alta atividade bactericida e fungicida e têm sido utilizados no controle de fitopatógenos (Velluti, 2004; Atti-Santos, 2010). Diversos estudos têm demonstrado o efeito inibidor de óleos no desenvolvimento de microrganismos deterioradores e patogênicos. Óleos essenciais apresentaram eficiência no controle de doenças, tanto por sua ação fungitóxica, que inibe o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela presença de compostos eliciadores (Pereira, et al. 2006). Ao longo dos anos, os agrotóxicos têm sido indiscriminadamente utilizados para controlar doenças, pragas e plantas invasoras na agricultura. Esta utilização tem promovido vários problemas ambientais, tais como: contaminação de alimentos, do solo, da água, dos animais, o desequilíbrio do sistema biológico e a redução da biodiversidade. Mas apesar destes fatos observados pelo uso de agrotóxicos, a sua utilização é extremamente atraente por sua simplicidade e previsibilidade e, a

necessidade de pouco entendimento dos processos básicos do agroecossistema por parte dos produtos. Nessa constante busca pela redução do uso de agrotóxicos, a utilização de moléculas de origem orgânica tem sido uma alternativa bastante promissora. Diante disso, este trabalho teve como objetivo avaliar *in vitro* o potencial de inibição do óleo essencial da *Pothomorphe umbellata* (Pariparoba) e extratos aquosos, etanólicos e hidroetanólicos das plantas *Coronopus didymus* (Mestruz), *Pothomorphe umbellata*, *Bidens pilosa* (Picão) e *Punica granatum* (Romã) sobre o crescimento micelial do fitopatógeno de interesse agrícola *Fusarium* spp.

Metodologia

As plantas foram coletadas aos arredores do INBI/UCS, no Município de Caxias do Sul/RS (S / 29°09'78,0" e W / 51°08'65,9"). O microrganismo foi retirado da Micoteca do Lab. de Controle de Doenças de Plantas da UCS.

Extração do óleo essencial: por hidrodestilação em aparelho CLEVENGER durante 1 hora, e a identificação dos componentes químicos foi feita por cromatografia gasosa (GC) e cromatografia gasosa acoplada a detector seletivo de massas (GC/MS). Obtenção dos extratos das plantas: aguoso: planta seca e moída com água destilada na proporção: 20 g:80 mL. Após, o extrato foi filtrado em papel filtro e, em membrana de porosidade de 0,2 µm. Extrato hidroetanólico: a planta seca e moída + álcool 70% na proporção 20 g:80 mL. A filtração ocorreu em papel filtro e em membrana 0,2 µm. Após evaporou-se o etanol em banho-maria a 45° C. Extrato etanólico: as plantas permaneceram em frasco âmbar, 60 g:200 mL de etanol PA por 15 dias. Após, o líquido foi filtrado e evaporado em evaporador rotatório (Celoto *et al.* 2008 - modificado).

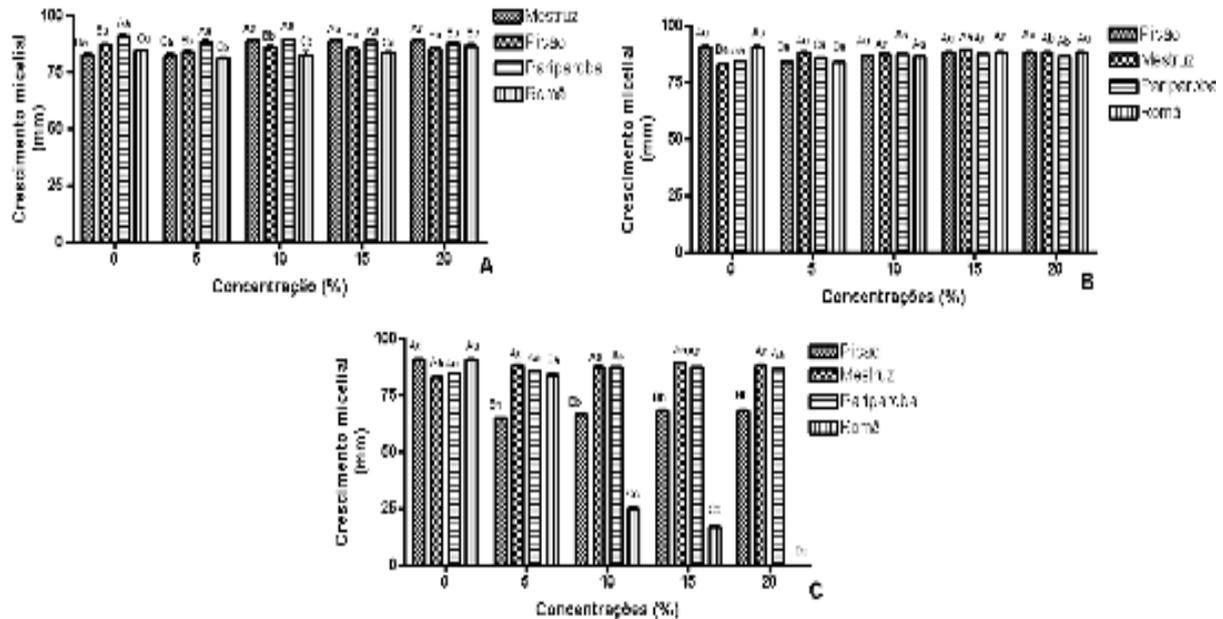
Avaliação *in vitro* da atividade biológica do óleo essencial e dos extratos vegetais sobre o crescimento micelial de *Fusarium* spp. As concentrações do óleo essencial utilizadas foram 0,01; 0,05; 0,1; 0,15 e 0,20%. Para os extratos, foram de 5; 10; 15 e 20%. O meio BDA foi plaqueado, e um disco (0,5cm de diâmetro) de ágar colonizado com o fungo, foi transferido para o centro de cada placa. O tratamento testemunha, continha apenas o meio BDA. As placas foram incubadas em BOD com fotoperíodo, a 25° C, por 14 dias. As avaliações foram feitas nos 3º, 7º e 14º dias de incubação através das medidas dos diâmetros da colônia de crescimento do fungo. Análise estatística: análise de variância (ANOVA one-way), teste Tukey, utilizando-se o programa SPSS (PASW Statistics 18).

Resultados e discussões

Os trabalhos expostos evidenciam que cada espécie responde diferentemente aos fatores ambientais, genéticos e técnicos, como época, idade e densidade de plantio, portanto há a necessidade de estudos específicos relacionados aos aspectos agrônômicos com diferentes técnicas de cultivos e/ou manejo de espécies medicinais. A maioria dos trabalhos sobre a variação de metabólitos secundários em plantas medicinais sob influência de colheitas referem-se às condições climáticas que caracterizam as estações do ano, como as fases de crescimento e desenvolvimento (Lorenzetti, 2011).

Os dados apresentados na Figura 1 demonstram que houve diferença significativa entre os tipos de extratos e as plantas testadas. Entre os extratos hidroetanólico (A)

e Aquoso (B) não houve inibição do fitopatógeno em nenhuma das concentrações testadas. Em relação aos testes com extrato etanólico (C), a planta Romã, foi a que mais inibiu o crescimento do fungo. A partir da concentração 10% houve inibição do do fitopatógeno em 75% e na concentração 20% a inibição foi total. Outra planta que também mostrou diferença significativa foi o Picão, com 30% de inibição do fungo em questão.



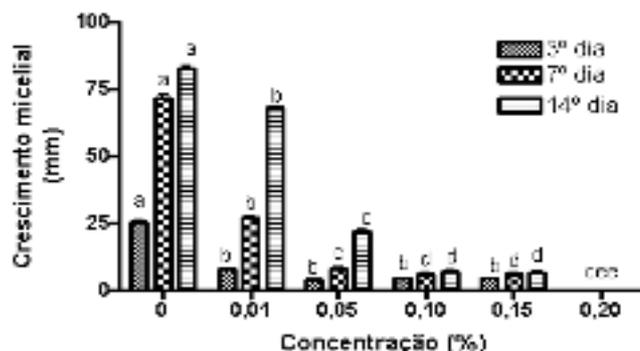
*Médias seguidas de mesma letra, maiúscula entre espécies de plantas e minúsculas entre concentrações não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 1: Avaliação dos Extratos Hidroetanólicos (A); Aquoso (B) e Etanólico (C) das plantas Mestruz, Picão, Pariparoba e Romã sobre o desenvolvimento do fitopatógeno *Fusarium spp.* no 14º dia de crescimento micelial (mm).

Os extratos hidroetanólicos e aquosos testados, não apresentaram controle em relação ao fungo *Fusarium spp.* Estes resultados podem ser atribuídos a uma possível inadequação das doses empregadas, sugerindo que em trabalhos futuros sejam utilizadas doses mais elevadas. Itako (2008) relataram que o extrato etanólico de *Cymbopogon citratus* a 10%, inibiu completamente o crescimento *in vitro* de vários patógenos causadores de podridão radicular em feijoeiro, resultados que corroboram com o nosso trabalho.

O rendimento do óleo essencial de Pariparoba apresentou 0,32%. As substâncias químicas identificadas em maior proporção no óleo essencial foram germacreno-D (30,26%), α -selineno (8,29%), δ -cadineno (7,83%), E-cariofileno (7,25%), γ -muroloeno (4,0%), δ -elemeno (3,23%) e espatulenol (2,57%), compreendendo 63% do total identificado. A identificação de componentes oriundos do metabolismo secundário de plantas, presentes nos óleos essenciais, que exercem efeito no controle de doenças, torna-se uma ferramenta auxiliar na indústria química quanto à prospecção de novos produtos (Lorenzetti, 2011).

Os dados da Figura 2 evidenciaram que o óleo essencial de Pariparoba inibiu o crescimento do *Fusarium* spp., a partir da concentração 0,05% e demonstraram 100% de controle somente na concentração 0,20%.



*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 2: Avaliação do Óleo essencial de Pariparoba sobre o desenvolvimento do fitopatógeno *Fusarium* spp. no 14º dia de crescimento micelial (mm).

Conforme Mayaud et al. (2008), o óleo essencial de *Bacharis trimera* apresentou bons resultados *in vitro*, inibindo o crescimento micelial do fitopatógeno *Fusarium* spp. nas concentrações 0,15 e 0,20%.

Assim, os óleos essenciais constituem nova alternativa para o manejo de doenças nos casos de resistência a fungicidas (Chang et al., 2008). Além disso, geralmente, os óleos essenciais possuem baixa toxicidade para mamíferos, são biodegradáveis, não persistentes no ambiente, além de apresentarem atividade inseticida e fungicida (Isman, 2000).

O óleo essencial de pariparoba mostrou-se promissor para estudos futuros neste patossistema. Igualmente, com o avanço da agricultura orgânica e as exigências do mercado consumidor por produtos oriundos de práticas agrícolas menos agressivas, os óleos essenciais podem atender esta demanda, fornecendo subsídios para o manejo de doenças quando necessário.

Conclusões

Os dados obtidos neste trabalho, permitem concluir que as plantas Romã (*P. granatum*) e Pariparoba (*P. umbellata*), tem efeito no controle do crescimento micelial do fungo *Fusarium* spp., quando na forma de extrato etanólico e óleo essencial respectivamente.

Referências bibliográficas

- ATTI-SANTOS, AC; ROSSATO, M; SERAFINI, LA.; BUENO, M.; CRIPPA, LB; SARTORI, VC; DELLACASSA, E; MOYNA, P. Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. E *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul. Brazilian. **Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 2, p. 154-159, 2010.
- CELOTO, M.I.B.; PAPA, M.F.S.; SACRAMENTO, L.V.S. & CELOTO, F.J.. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.30, n.1, p.1-5, 2008.

- CHALFOUN, S.M.; PEREIRA, M.C.; RESENDE, M.L.V.. Effect of powdered spice treatments growth, sporulation and production of aflatoxin by toxigenic fungi. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, p. 856-862, 2004
- ITAKO, A.T.; SCHWAN-ESTRADA, K. Atividade antifúngica e proteção do tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Tropical Plant Pathology**. v. 33, p. 241-244, 2008.
- LORENZETTI, E.R.; MONTEIRO, F.P.; SOUZA, P.E.; SOUZA, R.J.; SCALICE, H.K.; DIOGO JR, R.; PIRES, M.S.O. Bioatividade de óleos essenciais no controle de *Botrytis cinerea* isolado de morangueiro. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.13, especial, p.619-627, 2011.
- MAYUD, L. et al. Comparison of bacteriostatic and bactericidal activity of 13 essential oils against strains with varying sensitivity to antibiotics. Letters in Applied **Microbiology**, v.47, p.167-173, 2008.
- PEREIRA, M.C.; VILELA, G.R.; COSTA, L.M.A.S.; SILVA, R.F.; FERNANDES, A.F. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciê. Agrotec**, Lavras, v. 30, p.731-738, 2006.
- SOUZA, E.L; LIMA, E.O.; Freire, K.R.L.; Souza, CP. Inhibitory action of some essential oils and phytochemicals on the growth of moulds isolated from foods. **Braz. Arch. Biol. Technol**, v. 48, p. 245-250, 2005.
- VELLUTI, A.; MARIN, S.; GONZALEZ, P.; RAMOS, A.J. Initial screening for inhibitory activity of essential oils on growth of *Fusarium verticillioides*, *F. proliferatum* and *F. graminearum* on maize-based agar media. **Food Microbiology**, v. 21, p. 649-656. 2004.