

Efeito da Autoclavagem, Congelamento e Adição de Antioxidante na Atividade Antifúngica do Extrato de *Eucalyptus Citriodora*

Effect of autoclaving, freezing and addition of antioxidant in the antifungal activity of Eucalyptus citriodora extract

FRANZENER, Gilmar. Universidade Estadual de Maringá - UEM, gfranzener@hotmail.com; MOURA, Gabriela Silva. UEM, bismoura@hotmail.com; MÜLLER, Sidnei Francisco. Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, s_fmuller@hotmail.com; MEINERZ, Cristiane Cláudia. UNIOESTE, crismeinerz@hotmail.com; STANGARLIN, José Renato. UNIOESTE, jrstangarlin@unioeste.br; SCHWAN-ESTRADA, Kátia Regina Freitas. UEM, schwan@wnet.com.br

Resumo

Extratos de plantas apresentam compostos que tem demonstrado potencial para controle de doenças em plantas. Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de antioxidante (vitamina C 0,5%), da autoclavagem e do congelamento do extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora* em sua atividade antifúngica sobre *Colletotrichum lagenarium*. O ensaio foi realizado em placa de teste de Elisa onde cada poçinho recebeu 40 µL do tratamento e 40 µL de suspensão de esporos de *C. lagenarium*. Foram avaliadas a germinação de esporos, formação de apressórios e o tamanho dos tubos germinativos. A vitamina C mostrou efeito fungitóxico. A autoclavagem tendeu a potencializar a atividade antifúngica. Poucas alterações foram provocadas pelo congelamento. Houve inibição dos parâmetros avaliados pelos tratamentos contendo extrato, indicando atividade antifúngica mostrando alternativa no manejo desta doença onde e a adoção de critérios de preparo e conservação podem potencializar o efeito.

Palavras-chave: *Colletotrichum lagenarium*, agroecologia, controle alternativo.

Abstract

Compounds of plants extracts have shown potential for plants diseases control. The aim of this work was to evaluate the effect of antioxidant (vitamin C 0.5%), autoclaving and the freezing of the aqueous extract of Eucalyptus citriodora in the antifungal activity against Colletotrichum lagenarium. The assay was performed in ELISA plate test that received 40 µL of treatment and 40 µL of spores suspension of C. lagenarium. We evaluated the germination of spores, formation of appressoria and size of germ tubes. Vitamin C showed fungitoxic effect. The autoclaving tended to potentiate the antifungal activity. Few changes were caused by freezing. Inhibition was evaluated by the treatments containing extract, indicating antifungal activity showing an alternative in the management of this disease and where the adoption of methols of preparation and storage may enhance this effect.

Keywords: *Colletotrichum lagenarium*, organic growth, alternative control.

Introdução

A diversidade de substâncias ativas em plantas medicinais têm motivado estudos na área farmacêutica, bem como o desenvolvimento de pesquisas envolvendo extratos e óleos essenciais tendo em vista o controle de doenças em plantas, com resultados promissores.

As plantas medicinais possuem compostos secundários que tanto podem ter ação fungitóxica (ação antimicrobiana direta) (GUHA et al., 2005) como elicitora, ativando mecanismos de defesa nas plantas (ação indireta) (SCHWAN-ESTRADA e STANGARLIN, 2005). Na literatura é possível encontrar vários trabalhos que utilizam as propriedades antimicrobianas dos compostos secundários de plantas medicinais para o controle de agentes fitopatogênicos, tais como de *Achillea millefolium*, *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus citriodora* e *Ageratum conyzoides* contra

Resumos do VI CBA e II CLAA

Didymella bryoniae (FIORI et al., 2000), de *Cymbopogum nardus* contra *Botrytis cineria* (WILSON et al., 2007), de *Artemisia camphorata* (FRANZENER et al., 2003) e de *Eucalyptus citriodora* contra *Colletotrichum lagenarium* (BONALDO et al., 2004).

Por outro lado ainda são escassas as informações sobre a estabilidade e conservação desses extratos, embora procedimentos como autoclavagem e congelamento sejam comumente utilizados. A potencialização da atividade fungitóxica e elicitora de fitoalexinas do extrato aquoso de cânfora com a incorporação de antioxidante já foi relatada por Franzener et al., (2001).

Assim este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de antioxidante, da autoclavagem e do congelamento do extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora* em sua atividade antifúngica sobre *Colletotrichum lagenarium*, agente causal da antracnose em cucurbitáceas e que representa uma das mais importantes doenças dessas culturas.

Metodologia

Para obtenção do extrato bruto aquoso de *Eucalyptus citriodora*, folhas frescas foram trituradas por 1 min em liquidificador na proporção de 10 g de material vegetal para 100 mL de água destilada acrescida ou não de 0,5 % de vitamina C (ácido ascórbico). O material resultante foi filtrado em gase e em papel Whatman n. 40, obtendo-se o extrato a 10%. O material foi então autoclavado ou não, e congelado a -22 °C ou mantido em refrigerador a 4 °C por 24 h quando foi utilizado no ensaio.

O isolado de *Colletotrichum lagenarium* foi cultivado em meio de aveia do qual foi preparada a suspensão de esporos. O ensaio foi realizado em placas de teste Elisa, adicionando-se 40 uL de tratamento e 40 uL da suspensão de esporos (1×10^5 conídios/mL) em cada orifício da placa. As placas foram mantidas no escuro à temperatura de 25 °C por 20 h. Após isso, foram acrescidos 10 uL de azul algodão de lactofenol para paralisação da germinação. Em seguida foram determinadas a porcentagem de germinação e formação de apressórios, e o tamanho médio dos tubos germinativos.

Resultados e discussões

Os tratamentos com a presença do extrato aquoso de *E. citriodora* afetaram negativamente o desenvolvimento de *C. lagenarium*, indicando atividade antifúngica do extrato. A adição da vitamina C inibiu a germinação de esporos, a formação de apressórios e o desenvolvimento dos tubos germinativos em relação a testemunha contendo apenas água, indicando a fungitoxidade deste antioxidante (Figura 1).

Quanto a germinação de esporos, maior inibição foi promovida pelo extrato sem antioxidante e autoclavado que chegou a 52,7%, indicando que neste caso o tratamento térmico pela autoclavagem pode potencializar a atividade antifúngica do extrato. Aumento na atividade fungitóxica pela autoclavagem já havia sido relatada por Bonaldo et al., (2004).

O congelamento do extrato pouco afetou os resultados, com exceção no desenvolvimento dos tubos germinativos, onde o congelamento acarretou uma pequena redução na atividade. O extrato sem antioxidante e sem autoclavagem teve menor atividade na germinação de esporos e no desenvolvimento de tubos germinativos, com hifas maiores e ramificadas, indicando que a adição de antioxidante e a autoclavagem podem contribuir para o uso do extrato. A potencialização da atividade antifúngica e indutora de fitoalexinas com o uso do antioxidante sulfito de sódio anidro foi relatada por Franzener et al., (2001) no extrato de *Artemisia camphorata*.

Resumos do VI CBA e II CLAA

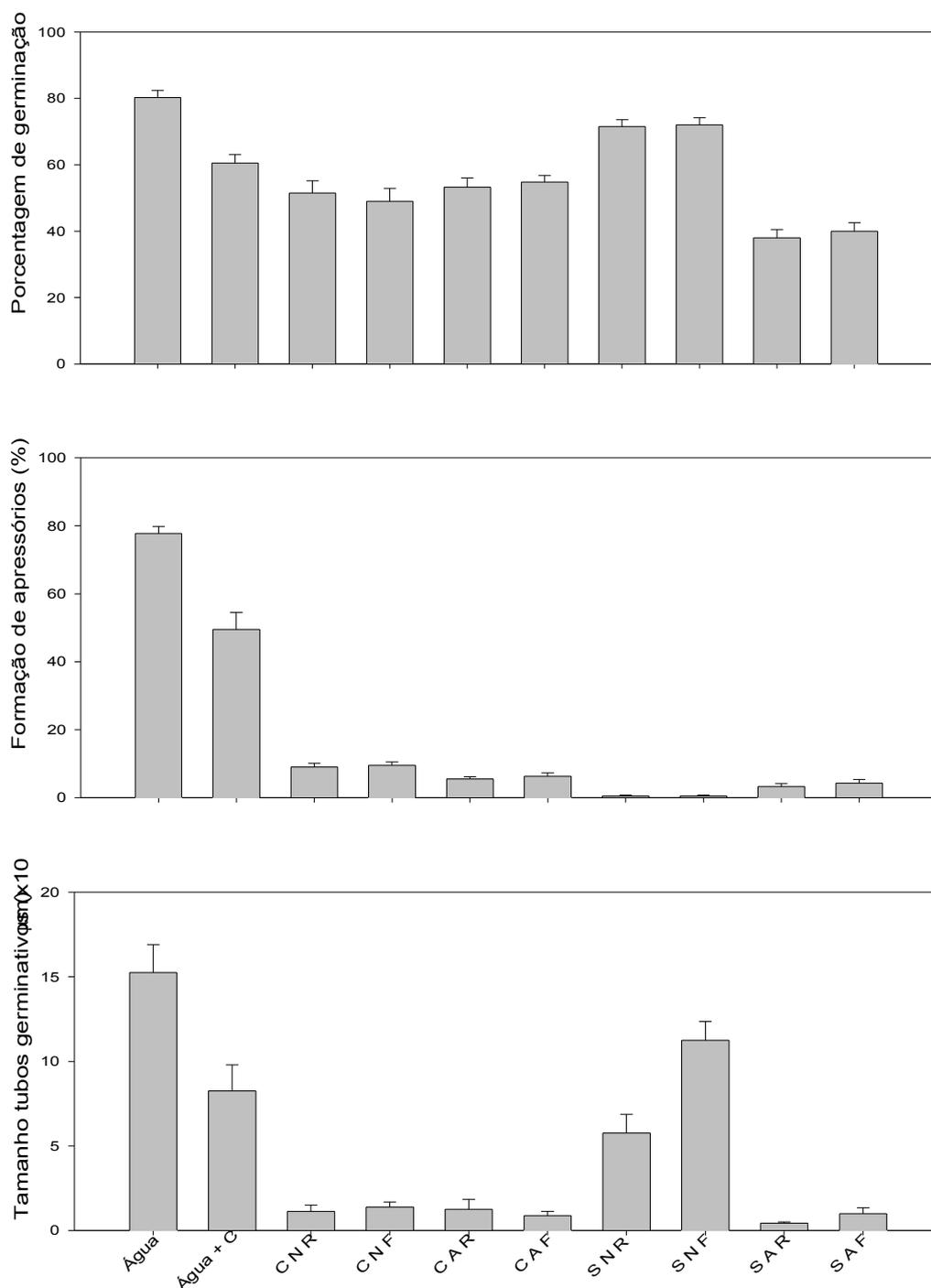


FIGURA 1. Porcentagem de germinação de esporos, formação de apressórios e tamanho médios dos tubos germinativos de *Colletotrichum lagenarium* em função do tratamento com extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora* submetido a adição de antioxidante, autoclavagem e congelamento. C: com antioxidante; S: sem antioxidante; N: não autoclavado; A: autoclavado; R: refrigerado 4 °C; F: congelado -22 °C. Barras representam o erro padrão da média.

Conclusões

O extrato de *E. citriodora* mostrou atividade antifúngica sobre *C. lagenarium*. O congelamento pode contribuir como alternativa de conservação. A vitamina C se mostrou fungitóxica mas assim como a autoclavagem podem contribuir para o emprego prático do extrato no controle de doenças de plantas e otimizar seu efeito.

Referências

BONALDO, S.M. et al. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium* pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 29, p. 128-134, 2004.

FIORI, A.C.G. et al. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. *Journal of Phytopathology*, Berlin, v. 148, p. 483-487, 2000.

FRANZENER, G. et al. Potencialização da atividade fungitóxica e elicitora de fitoalexinas do extrato aquoso de cânfora com a incorporação de antioxidante. *Summa Phytopathologica*, Jaguariúna, v. 27, n.1, p.103, 2001.

FRANZENER, G. et al. Atividade antifúngica e indução de resistência em trigo a *Bipolaris sorokiniana* por *Artemisia camphorata*. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 25, p. 503-507, 2003.

GUHA, G.P.; MUKHOPADHYAY, R; GUPTA, K. Antifungal activity of the crude extracts and extracted phenols from gametophytes and sporophytes of two species of *Adiantum*. *Taiwania*, Taipei, v. 50, n. 4, p. 272-283, 2005.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R. Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência. In: CAVALCANTI et al. (Eds). *Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos*. Piracicaba: FEALQ. 2005. Cap.5. p.125-138.

STANGARLIN, J.R. et al. Plantas Mediciniais: plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. *Biotechnology Ciência & Desenvolvimento*, Brasília, v.11, p. 16-21. 1999.

WILSON, C.L. et al. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant Disease*, Saint Paul, v. 81, p. 204-210, 1997.