

FUNGITOXIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DO CAPIM-LIMÃO (*Cymbopogon citratus*) E DA CAMOMILA (*Matricaria recutita*) SOBRE O FITOPATÓGENO *Cladosporium cladosporioides*

Lucas Pinheiro DIAS (1); André de Sousa LOPES (2); Clidia Eduarda Moreira PINTO (3); Hudson Fernando Nunes MOURA (4); Vera Lucia Viana do NASCIMENTO (5)

(1) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Praça da Liberdade nº 1597, Centro, CEP 64000-040, Teresina-PI, e-mail: lpinheirodias@gmail.com

(2) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, e-mail: andre.lobes18@hotmail.com

(3) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, e-mail: clidiaduda@yahoo.com.br

(4) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, e-mail: nandonunez@yahoo.com.br

(5) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, e-mail: veravnascimento@gmail.com

RESUMO

O uso intensivo de agrotóxicos tem gerado sérios problemas ambientais, esse fato aliado ao elevado custo de aplicação desses produtos tem impulsionado a busca por novas medidas de controle de pragas no campo. As plantas medicinais representam uma alternativa para a substituição dos fungicidas sintéticos por produtos naturais, pois possuem grande quantidade e variedade de metabólitos secundários com propriedades biológicas. Sendo assim, a presente pesquisa experimental foi desenvolvida com objetivo de avaliar a ação fungitóxica dos óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* (Capim-limão) e *Matricaria recutita* (Camomila) sobre o crescimento micelial do fitopatógeno *Cladosporium cladosporioides*. Os óleos essenciais foram incorporados ao meio de cultura BDA ainda fundente, de modo a obter-se concentrações de 3,12, 6,25, 12,5 e 25 µL de óleo/mL de BDA. Após a solidificação do meio, foi feita a inoculação. O resultado foi obtido comparando-se o diâmetro das placas-teste com as testemunhas. O óleo essencial do capim-limão mostrou-se mais eficiente no controle do crescimento do fitopatógeno em estudo, inibindo totalmente seu desenvolvimento na concentração de 25 µL/mL de BDA. O óleo essencial da camomila também mostrou-se bastante fungitóxico, inibindo quase 70% o crescimento do fitopatógeno em estudo. Resultados como este são animadores, pois confirmam os dados da literatura de que as plantas representam importantes fontes de compostos com atividade fungitóxica que podem ser utilizados em substituição aos pesticidas sintéticos.

Palavras-chave: plantas medicinais, metabólitos secundários, fungitoxidade.

1 INTRODUÇÃO

O uso intensivo e indiscriminado de agrotóxicos tem causado diversos problemas ao meio ambiente, como contaminação do solo, água e alimentos, além de contribuir para o aumento do número de pragas resistentes (BONALDO et al. 2007). Com o objetivo de reduzir os efeitos negativos do uso dessas substâncias e aumentar a produção de alimentos de melhor qualidade, propiciando assim o desenvolvimento de uma agricultura "mais limpa", têm-se buscado novas medidas de proteção das plantas contra as doenças.

O emprego de substâncias extraídas de vegetais que podem atuar na inibição de fungos fitopatogênicos representa uma opção no controle de doenças no campo (COUTINHO et al., 1999). Nesse sentido muitos pesquisadores têm se dedicado à busca de produtos naturais com atividade fungitóxica e sua aplicação no controle de fungos fitopatogênicos que causam grandes prejuízos para culturas de interesse econômico. Dentre esses produtos, os óleos essenciais, caracterizados como metabólitos secundários de plantas e de baixa toxicidade a mamíferos, são amplamente testados no controle de tais pragas agrícolas (SILVIA & BASTOS, 2007).

Diante do exposto foi desenvolvida a presente pesquisa experimental com o objetivo de avaliar a ação do óleo essencial do capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e da camomila (*Matricaria recutita*) sobre o crescimento micelial de *Cladosporium cladosporioides*.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O uso prolongado e em grande quantidade de defensivos agrícolas pode levar a contaminação ambiental e dos alimentos, representando perigo para a saúde dos consumidores. Devido a tais problemas e a necessidade de se praticar uma agricultura sustentável, diversos estudos vêm sendo conduzidos na busca por métodos alternativos para o controle de doenças em plantas (KIMATI et al. 1997).

Um dos focos de estudo são os chamados metabólitos secundários. As plantas produzem diversos compostos orgânicos, muitos dos quais não participam diretamente de seu desenvolvimento. Essas substâncias referidas como metabólitos secundários ou produtos naturais desempenham um papel fundamental nas suas interações de defesa contra predadores e patógenos. Muitos destes metabólitos secundários apresentam atividades biológicas e têm sido utilizados na indústria farmacêutica e agroquímica (ANDRADE, 2006).

As propriedades antimicrobianas de extratos e óleos essenciais obtidos de plantas medicinais têm sido reconhecidas empiricamente durante séculos, mas foram confirmadas cientificamente apenas recentemente. Vários pesquisadores estudam a atividade biológica de plantas medicinais originárias de diversas regiões do mundo, orientados pelo uso popular das espécies nativas, mostrando que seus extratos e óleos essenciais são eficientes no controle do crescimento de uma ampla variedade de microrganismos, incluindo fungos filamentosos, leveduras e bactérias (JANSEN et al., 1987).

Tais produtos podem ser utilizados na agricultura como forma alternativa de controle de fungos fitopatogênicos a exemplo do *Cladosporium cladosporioides*, agente causador da verrugose, doença que ataca os tecidos novos de folhas, os ramos, as gavinhas, as flores e os frutos do maracujazeiro. A doença ocasiona o surgimento de pequenas manchas translúcidas e circulares nas folhas e posterior necrose e queda das mesmas. Nos frutos, as lesões são superficiais, e apesar de não afetarem a polpa levam a uma rejeição dos mesmos em função da aparência indesejada ocasionada pelo crescimento do tecido da casca adjacente à margem da lesão, levando a formação de estruturas que lembram verrugas (GOES, 1998).

Além da verrugose, o *C. cladosporioides* também ocasiona queima de mudas de maracujazeiro, uma doença comum, sobretudo em viveiros onde as plantas são mantidas em populações muito densas, sendo sua evolução muito rápida, levando à necrose generalizada da parte aérea das plantas atacadas (BARRETO et al. 1996)

Neste trabalho foi avaliada a ação dos óleos essenciais de duas espécies de plantas utilizadas na medicina caseira sob o crescimento micelial de *C. cladosporioides*. A primeira conhecida como capim-limão (*Cymbopogon citratus*) tem sido amplamente estudada, pois apresenta atividade antifúngica, antibacteriana, anti-helmíntica, inseticida, diurética e anticarcinogênica. (FIGUEIREDO et al. 2002). A segunda espécie conhecida como camomila (*Matricaria recutita*), é largamente utilizada na indústria farmacêutica e de

cosméticos devido às suas propriedades antiespasmódica, antiinflamatória e antimicrobiana, além de servir como corante para cabelo e fragrância (PANNIZA, 1997).

3 METODOLOGIA

3.1 Obtenção dos óleos essenciais

Os óleos essenciais de camomila e capim-limão foram adquiridos na forma comercial no Mercado Central de Belo Horizonte – Minas Gerais, no mês de Novembro de 2008. A verificação da atividade fungitóxica dos óleos foi realizada no mês de Novembro do mesmo ano no Laboratório de Biologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí.

3.2 Ensaio de inibição do crescimento micelial

A atividade antifúngica foi avaliada por meio da inibição do crescimento micelial de *Cladosporium cladosporioides* de acordo com a metodologia proposta por Franzener et al. (2007). A linhagem do fungo foi cedida pelo Laboratório de Fungos Zoospóricos da Universidade Federal do Piauí e o meio de cultura utilizado no experimento foi o Ágar Batata Dextrose, BDA. Os óleos foram incorporados ao meio de cultura ainda fundente de modo a obter-se quatro diferentes concentrações: 3,12, 6,25, 12,5 e 25 µL de óleo/mL de BDA. Após a solidificação do meio, um disco de micélio de 6 mm de diâmetro foi transferido de uma cultura pura de sete dias para o centro da placa. A avaliação foi realizada através de duas medições diametralmente opostas das colônias quando o controle (BDA sem adição de óleo) atingiu o máximo de crescimento. O experimento foi conduzido em triplicata de forma inteiramente casualizada. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. O programa utilizado para os referidos cálculos foi o ASSISTAT versão 7.5 beta (SILVA, 2010).

4 ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS DADOS

Na Tabela 1 estão expressos os resultados obtidos na avaliação da toxicidade do óleo essencial do capim-limão frente ao fitopatógeno *Cladosporium cladosporioides*. É possível perceber que na menor concentração avaliada já houve uma considerável inibição do crescimento micelial, aproximadamente 42%. As concentrações de 3,12 e 6,25 µL/mL apresentaram o mesmo efeito sobre o crescimento micelial do patógeno, uma vez que o crescimento médio nos dois tratamentos não apresentou diferença significativa. A concentração de 12,5 µL/mL inibiu em mais de 72% o crescimento do fungo e a concentração de 25 µL/mL inibiu totalmente o crescimento de *C. cladosporioides*.

Tabela 1: Taxas de inibição do crescimento micelial de *C. cladosporioides* sobre ação do óleo essencial do capim-limão

Concentrações (µL/mL de BDA)	Crescimento micelial médio (cm)	Taxa de inibição (%)
0,00	5,88 a	-
3,12	3,42 b	41,8
6,25	2,72 b	53,7
12,5	1,63 c	72,1
25,0	0,00 d	100,0

*Médias acompanhadas com a mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey a 5% de probabilidade)

A atividade antimicrobiana do *C. citratus* é citada em vários estudos e sugere-se que o citral é o principal responsável por esta atividade. Schuck e colaboradores (2001) avaliaram a atividade antimicrobiana de *Cymbopogon citratus* frente à *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*. Os resultados obtidos comprovaram a acentuada atividade antifúngica sobre *C. albicans*, superando os valores de inibição do antifúngico padrão (nistatina).

A atividade antifúngica do óleo essencial de *C. citratus* também já foi avaliada frente a diferentes espécies de dermatófitos, dos gêneros *Trichophyton* e *Microsporum*, sendo comprovada ação contra tais fungos (KISHORE et al. 1993; LIMA et al. 1993).

Itako e colaboradores (2009) avaliaram a fungitoxicidade *in vitro* de extratos brutos aquosos de várias espécies de plantas medicinais, entre elas *C. citratus*, frente ao fitopatógeno *Cladosporium fulvum*. Os resultados obtidos mostram que o extrato do capim-limão inibiu cerca de 20% o crescimento micelial do fungo quando testado na concentração de 40,67% em relação ao meio de cultura. Os resultados mostram ainda que o extrato bruto aquoso do capim-limão na concentração de 20,46% produziu uma inibição de 96,30% da germinação dos esporos de *C. fulvum*.

Em estudo semelhante, Baldo e colaboradores (2005) avaliaram a ação fungitóxica do extrato aquoso de *C. citratus* sobre *Cladosporium fulvum*, através da mistura do extrato em meio BDA, nas concentrações de 1, 5, 10, 15 e 20%. O extrato em estudo inibiu 77% do crescimento micelial do fitopatógeno, 71% da sua esporulação e 24% da germinação de esporos.

O óleo essencial da camomila também apresentou atividade inibitória no desenvolvimento de *C. cladosporioides*, no entanto esta foi menor do que a observada para o óleo do capim-limão. As taxas de inibição estão expostas na Tabela 2. O crescimento micelial médio não apresentou diferença significativa para as concentrações de 3,12, 6,25 e 12,5 $\mu\text{L/mL}$, sendo que a taxa de inibição média das três concentrações foi de 29,5%. Para a concentração de 25 $\mu\text{L/mL}$ obteve-se uma taxa de inibição de 67,5%, taxa essa inferior a observada para o mesmo tratamento com o óleo essencial do capim-limão.

Tabela 2: Taxas de inibição do crescimento micelial de *C. cladosporioides* sobre ação do óleo essencial da camomila

Concentrações ($\mu\text{L/mL}$ de BDA)	Crescimento micelial médio (cm)	Taxa de inibição (%)
0,00	5,88 a	-
3,12	4,73 b	25,7
6,25	4,10 b	30,3
12,5	3,97 b	32,5
25,0	1,91 c	67,5

*Médias acompanhadas com a mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey a 5% de probabilidade)

Nogueira e colaboradores (2008) avaliaram a ação do óleo essencial da camomila e concluíram que o mesmo não produziu efeito inibitório sobre o gênero *Pseudomonas*, no entanto, na concentração de 4%, produziu atividade inibitória sobre o crescimento de três cepas de *Staphylococcus* e as duas cepas do gênero *Candida*, com halos de inibição variáveis de 10 a 12 mm de diâmetro.

A *Matricaria recutita* é conhecida por apresentar uma variedade de flavonóides ativos. O seu óleo essencial é bastante volátil e rico em terpenóides, como o alfa-bisabolol e camazuleno. Esses constituintes propiciam a atividade antiinflamatória, antiespasmódica e antimicrobiana da camomila (MULINACCI et al. 2000).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos comprovaram a acentuada atividade antifúngica apresentada pelos óleos voláteis de *C. citratus* e *M. recutita*. O óleo essencial do capim limão mostrou-se mais ativo para o controle do crescimento micelial de *C. cladosporioides* quando comparado ao óleo essencial da camomila. Resultados como este confirmam os dados da literatura sobre a ação antifúngica das espécies vegetais estudadas e reforçam a necessidade de novos estudos na busca por fungicidas naturais cujos efeitos para o meio ambiente são bem menos severos que os ocasionados pelos praguicidas sintéticos.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, S. P. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de *Cassia fistula* (Leguminosae). Osasco, SP: **Revista PIBIC**, v.3, n.2, p. 151-158. 2006.
- BALDO, M., et al. Potencial do extrato bruto de *Cymbopogon citratus* (capim-limão) e *Cymbopogon nardus* (citronela) no controle in vitro de *Cladosporium fulvum* do tomateiro. In: JORNADA CIENTÍFICA DA UNIOESTE, 3., 2005, Marechal Cândido Rondon, PR. **Anais**. Marechal Cândido Rondon: Unioeste, 2005.
- BARRETO, R. W., et al. Queima de mudas do maracujazeiro *Passiflora edulis* causada por *Cladosporium cladosporioides*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.21, supl., p. 348, 1996.
- BONALDO, S. M., et al. Contribuição ao estudo das atividades antifúngica e elicitora de fitoalexinas em sorgo e soja por eucalipto (*Eucalyptus citriodora*). **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v.33, n.4, p.383-387. 2007.
- COUTINHO, W. M., et al. Efeitos de extratos de plantas anacardiáceas e dos fungicidas químicos Benomyl e Captan sobre a microflora e qualidade fisiológica de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência e Agrotécnica**, v.23, p.560-568. 1999.
- FIGUEIREDO, R. O., et al. Effect of growth regulators in citral content in lemongrass in different seasons. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 569, n. 22, p. 47-49. 2002.
- FRANZENER, G. et al. Atividades antibacteriana, antifúngica e indutora de fitoalexinas de hidrolatos de plantas medicinais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 1, p. 29-38. 2007.
- GOES, A. Doenças fúngicas da parte aérea da cultura de maracujá. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO, 5., 1998, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: Funep, 1998, p. 208-216.
- ITAKO, A. T., et al. Controle de *Cladosporium fulvum* em tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.76, n.1, p.75-83, 2009.
- JANSEN A. M., et al. Antimicrobial activity of essential oils from Greek Sideritis species. **Pharmazie**, v.12, n.8. 1987.
- KIMATI, H., et al. **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. v.2. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda., 1997.
- KISHORE, N., et al. Fungitoxicity of essential oils against dermatophytes. **Mycoses**, Belfast, v.36, p.211-215, 1993.
- LIMA, E. O., et al. In vivo antifungal activity of essential oils obtained from officinal plants against dermatophytes. **Mycoses**, Belfast, v.36, p.333-336, 1993.
- MULINACCI, N., et al. Characterization of *Matricaria recutita* L. Flower extracts by HPLC-MS and HPLC-DAD analysis. **Chromatographia**, v.51, n.5. 2000.

NOGUEIRA, J. C. R., et al. Atividade antimicrobiana in vitro de produtos vegetais em otite externa aguda. **Rev. Bras. Otorrinolaringol.**, v.74, n.1, p.118-24. 2008.

PANIZZA, S. **Plantas que curam**. 28 ed. São Paulo, SP: IBRASA, 1997, 279p.

SCHUCK, V. J. A., et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Cymbopogon citratus*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n.1. 2001.

SILVA, D. M. M. H.; BASTOS, C. N. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de Piper sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. **Fitopatol. Bras.**, v.32, n.2. 2007.

SILVA, F. A. S. **ASSISTAT**. Versão 7.5 beta, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande-PB. 2010.