

EFEITO DE EXTRATO AQUOSO DE *Cymbopogon citratus* Staupf (capim-limão), *Ocimum basilicum* L (manjeriçã), *Vernonia scorpioides* (piracá) NA INCIDÊNCIA FÚNGICA NAS SEMENTES DE *Helianthus annuus* L (girassol).

Poliana Vilela da Silva¹, Liliana A. A. Pereira Pasin.²

^{1,2} Universidade do Vale do Paraíba – Univap /Faculdade de Educação – Ciências Biológicas, Av Shishima Hifumi, nº 2911, polivilela@yahoo.com.br, lpasin@univap.br.

Resumo – Fungos associados às sementes podem provocar redução do seu poder germinativo. O objetivo foi avaliar o efeito de extratos de plantas medicinais no controle fúngico em sementes de girassol e verificar o extrato mais efetivo no controle dos fungos. Coletaram-se mil sementes, as quais foram separadas em lotes para posterior desinfecção superficial com NaOCl, e imersão nos extratos vegetais. Foram utilizados os extratos de capim-limão, manjeriçã e piracá na concentração de 30%, e água destilada e esterilizada (controle). Após desinfecção, cada lote de cem sementes foi imerso nos extratos e água por 24 horas. A exteriorização dos fungos foi realizada através do método *Blotter Test*. A microflora foi avaliada por identificação e contagem dos fungos individualmente nos grãos em microscópio estereoscópico. A identificação das estruturas morfológicas foi confirmada em microscópio óptico. O extrato de capim-limão reduziu a incidência de *Fusarium sp*, *Rhizopus sp* e *A. ochraceus*, fungos encontrados associados às sementes de girassol no presente estudo. Concluiu-se que o extrato de capim-limão foi o mais efetivo no controle dos fungos associados a sementes de girassol.

Palavras-chave: fungo, semente, extrato, plantas medicinais.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas.

Introdução

A associação de fungos a grãos e sementes pode provocar perdas, levando a uma redução de germinação, descoloração do embrião ou de toda semente, mudanças bioquímicas e à produção de toxinas que podem ser letais aos homens e animais (CHRISTENSEN & KAUFMANN, 1969). Quando presentes nas sementes, diversos fungos podem provocar redução do seu poder germinativo, diminuindo sua qualidade e seu valor (LASCA, VECHIATO & KOHARA, 2004).

Dentre os inúmeros danos ocasionados pela incidência fúngica em grãos e sementes, está a produção de toxinas por fungos toxigênicos, as quais podem ser letais a homens e animais que as consomem.

A utilização de substâncias extraídas de vegetais que podem atuar na inibição de fungos associados a sementes pode ser de grande utilidade no controle de doenças no campo, com a vantagem de redução de gastos e redução do impacto ambiental causado pelos agroquímicos (COUTINHO et al., 1999).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de extrato de plantas medicinais no controle da incidência fúngica em sementes de *Helianthus annuus* L e verificar o extrato mais efetivo no controle dos fungos.

Materiais e Métodos

O presente trabalho foi realizado no CEN (Centro de Estudos da Natureza), no Laboratório de Microscopia, na Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), na cidade de São José dos Campos – SP.

Para determinar a eficiência dos extratos aquosos das plantas no controle da incidência de fungos associados a sementes de girassol, foram utilizados os seguintes tratamentos: T1= extrato aquoso de capim-limão (*Cymbopogon citratus* Staupf) (30%), T2 = extrato aquoso de manjeriçã (*Ocimum basilicum* L) (30%), T3 = extrato aquoso de piracá (*Vernonia scorpioides*) (30%), T4 = Controle (água destilada e esterilizada).

Para a preparação do extrato usaram-se folhas frescas trituradas, por um minuto, em água destilada e esterilizada, em liquidificador industrial (2 ciclos/15 segundos), em uma concentração de 30%. Os homogenatos restantes foram filtrados, obtendo-se então o extrato bruto aquoso (EBA).

O experimento iniciou-se com a coleta aleatória de mil sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.), sendo que para cada extrato utilizaram-se duzentas sementes.

Um lote de cem sementes de cada tratamento foi desinfetado superficialmente através da imersão em hipoclorito de sódio a 1% durante três minutos. Após a desinfecção, os grãos foram lavados com água destilada e esterilizada, para remover completamente os resíduos dos produtos.

A desinfecção superficial permite conhecer os fungos que se encontram no interior das sementes, podendo atingir o embrião e inibir a germinação.

No outro lote de cem sementes de cada tratamento, não foi realizada a desinfecção superficial, permitindo, assim, conhecer os fungos associados externamente às sementes.

Após a desinfecção, cada lote de cem sementes foi acondicionado em Becker de 1.000 ml contendo o extrato das plantas avaliadas e, no caso do tratamento de controle usou-se a água. Posteriormente as sementes foram mantidas em repouso por 24 horas.

Para verificação dos fungos associados às sementes, utilizou-se a técnica de *Blotter test* (TEMPE, 1963), que consiste na distribuição dos grãos em placas de Petri de 15cm de diâmetro, contendo três folhas de papel de filtro previamente esterilizadas e umedecidas em água destilada e esterilizada, para posterior incubação, até exteriorização dos fungos. Cada placa com vinte e cinco grãos foi considerada uma repetição, sendo quatro placas para cada tratamento.

A microflora associada aos grãos foi avaliada através da identificação e contagem dos fungos individualmente em cada semente em microscópio estereoscópico. Para a identificação das estruturas morfológicas utilizou-se o microscópio óptico.

Para a análise dos fungos associados às sementes, utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado.

A análise estatística foi realizada utilizando o sistema estatístico Instat.

Resultados

Resultados de análise de contaminação interna

O grau de contaminação interna pode ser um indicador do nível de risco já existente nos grãos de girassol, interferindo na germinação desta semente.

Pôde-se verificar que a incidência fúngica de *Fusarium sp.*, quando as sementes foram submetidas à desinfecção superficial com hipoclorito de sódio a 1% e imersas em extrato aquoso de capim-limão na concentração de 30%, foi menor quando comparada ao extrato aquoso de piracá na mesma concentração, sendo a diferença estatisticamente significativa a 5% de probabilidade de erro ($P < 0.01$). Verificou-se que o extrato de piracá estimulou o desenvolvimento de *Fusarium sp.*, quando comparado a testemunha.

Observou-se que os extratos aquosos de piracá e manjeriço estimularam o crescimento de *Fusarium sp.*, quando as sementes foram desinfetadas superficialmente com hipoclorito de sódio a 1%, com índice de 48% e 35% respectivamente. Já as sementes imersas no

extrato aquoso de capim-limão apresentaram uma incidência menor no desenvolvimento do fungo. Assim, pode-se inferir que o extrato desta planta pode ser promissor no controle de *Fusarium sp.* em infestação interna na semente de girassol (Figura 1).

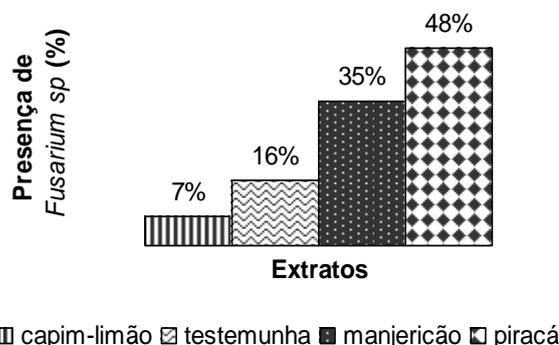


Figura 1- Porcentagem da incidência de *Fusarium sp.* em sementes desinfetadas e tratadas com diferentes extratos.

O índice de contaminação interna para o *Rhizopus sp.* no tratamento com o extrato de piracá foi de 18%, seguido do extrato de manjeriço com presença de 8%. O extrato de capim-limão sobressaiu como o melhor inibidor (Figura 2).

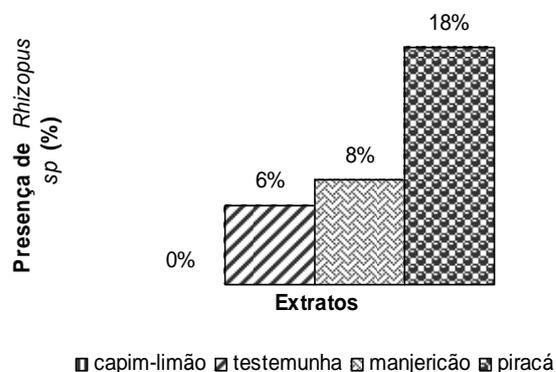


Figura 2 - Porcentagem da presença de *Rhizopus sp.* no tratamento com desinfecção superficial com hipoclorito de sódio a 1%.

Resultados da análise da contaminação externa

A presença dos fungos na parte externa dos grãos de girassol pode indicar uma contaminação do ambiente em que foram produzidos e processados. Dois gêneros fúngicos apresentaram índices de contaminação externa elevados. O *Fusarium sp.* apresentou maior valor (72%) no tratamento com extrato de manjeriço, e *Rhizopus sp.*, índice de 43%, quando as sementes de

girassol foram imersas no extrato de piracá (Figura 3).

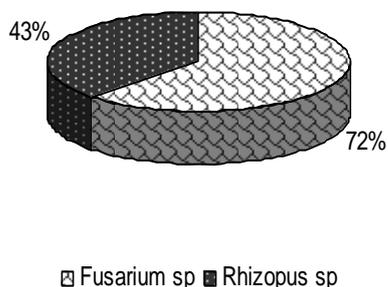


Figura 3 - Porcentagem da presença de maiores índices de contaminação fúngica externa.

Para as sementes não desinfetadas com hipoclorito de sódio a 1%, observou-se que a incidência fúngica de *Fusarium sp.* foi estatisticamente inferior quando tratadas com extrato de capim-limão, conforme o teste de contingência a 5% de probabilidade, quando comparado com as sementes imersas no extrato de manjericão.

Com relação à incidência do fungo *Fusarium sp.* em grão de girassol não desinfetados com hipoclorito de sódio a 1%, verificou-se que o extrato de manjericão obteve um índice superior aos demais extratos (72%). As sementes imersas no extrato de piracá apresentaram 46% de incidência desse fungo, e o extrato de capim-limão foi o mais efetivo no controle, com incidência de apenas 22% de *Fusarium sp.*

O gênero *Rhizopus* teve uma presença de 43% nas sementes de girassol imersas no extrato aquoso de piracá. No extrato capim-limão houve o aparecimento de 27% do fungo nos grãos, sendo que o extrato de manjericão foi capaz de inibir totalmente o crescimento desse fungo nas sementes não desinfetadas superficialmente com hipoclorito de sódio.

A testemunha apresentou uma incidência alta (51%) do fungo *Rhizopus sp.*, quando não ocorreu a desinfecção superficial com hipoclorito de sódio a 1%. Portanto, o extrato de manjericão inibiu o desenvolvimento do fungo, havendo diferenças significativas ($P < 0,05$) quando submetido ao teste de contingência.

A incidência de *Aspergillus ochraceus* na testemunha foi de 18%. Entretanto, quando as sementes foram tratadas com os extratos, a sua porcentagem reduziu, sendo de apenas 1% nos extratos de piracá e capim-limão. Para as sementes imersas no extrato de manjericão, não se detectou a ocorrência de *A. ochraceus*. De acordo com a análise estatística, não houve

diferenças significativas ($P < 0,01$) entre os extratos testados.

Comparação das sementes desinfetada e não desinfetados em relação aos extratos

A incidência dos fungos detectados nas sementes após imersão nos extratos frescos estão apresentados na Tabela 1. Considerou-se que a desinfecção e não-desinfecção dos grãos de girassol é essencial para se conhecer a contaminação do ambiente de produção e processamento do girassol, assim como a intensidade de infestação de cada fungo.

Tabela 1 - Incidência de fungos associados aos grãos de girassol processados em diferentes extratos.

Extratos	<i>Fusarium sp</i>		<i>Rhizopus sp</i>		<i>A. ochraceus</i>	
	ND	D	ND	D	ND	D
Testemunha	40	16	51	6	18	0
Capim limão	22	7	27	0	1	0
Manjericão	72	35	0	8	0	0
Piracá	46	48	43	18	1	0

ND – grãos não desinfetados com NaOCl a 1%

D – grãos desinfetados com NaOCl a 1%

Neste estudo, o extrato que sobressaiu na inibição da incidência fúngica nos grãos de girassol na parte interna da semente foi o de capim-limão, para os três gêneros de fungos detectados.

Na parte externa da semente, quando se refere ao *Rhizopus sp.*, o extrato de manjericão foi o mais efetivo.

Discussão

Assim como no estudo realizado, Silva et al. (2005) também verificou em seu trabalho que o extrato de capim -limão obteve maior eficácia no controle de *Fusarium sp.* nas sementes não desinfetadas superficialmente com hipoclorito de sódio a 1%. Mishra e Dubey (1994) constataram atividade fungitóxica do óleo essencial de capim-limão sobre fungo do gênero *Fusarium*.

A ação de alguns vegetais como o extrato de manjericão (*Ocimum basilicum* L.) (Duke et al., 1989) e óleos essenciais de capim-limão (*Cymbopogon citratus* Staupf) (Mishra; Dukey, 1994, Viegas et al., 2005) tem-se mostrado eficaz

no controle do gênero *Aspergillus*, coincidindo com o resultado encontrado neste estudo.

Estudos realizados por Cruz et al. (1998) mostraram que o tratamento de sementes de soja (*Glycine max*) com extrato aquoso de manjeriço (*Ocimum basilicum*) e capim-limão (*Cymbopogon citratus*), reduziu significativamente a incidência de *Aspergillus sp.* No presente estudo observou-se também menor incidência do fungo *Aspergillus* quando as sementes de girassol foram imersas no extrato de capim-limão.

Propriedades antifúngicas dos extratos obtidos de folhas e caules do piracá para *Aspergillus sp* foram constatadas por Freire et al., 1996, corroborando com os resultados obtidos neste estudo.

Belém et al. (2003) testaram o potencial antifúngico de várias espécies e destacaram os resultados obtidos com *Cymbopogon citratus*. A eficácia do capim-limão destacada por Belém et al. é confirmada neste estudo pelos resultados obtidos, em que o extrato de capim-limão foi eficiente na redução da incidência fúngica associada às sementes de girassol, tanto interna como externamente.

Conclusão

Concluiu-se que o extrato de capim-limão mostrou-se o mais eficiente na redução da incidência de fungos associados a sementes de girassol.

Referências

- BELÉM, L. F., LIMA, E., BARBOSA FILHO, J. M.; SILVA FILHO, R. N., LIMA, J. R., CASIMIRO, G. S. Atividade antifúngica de óleos essenciais "in vitro" contra cepas de *Malassezia furfur*. **Rev. Bras. Plantas Med.** 6:77-88, 2003.

- CHRISTENSEN, C. M., KAUFMANN, H. H. Grain storage: o role of fungi in quality loss, Minneapolis: **University of Minnescota Press**, 1969.

- COUTINHO, Wirton Macedo, ARAÚJO, Egberto & MAGALHÃES, Flávio Henrique Linhares. Efeito de extratos de plantas anacardiáceas e dos fungicidas químicos Benomyl e Captan sobre a micoflora e qualidade fisiológica de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris L.*). **Ciênc. e Agrotec., Lavras**, v.23, n.3, p.560-568, jul/set., 1999.

- CRUZ, M. E. S., BATISTA, M. A., INOVE, N. H. Eficácia das plantas medicinais *Ocimum basilicum*, *Lavanda officinalis*, *Cymbopogon citratus* e *Eucalyptus citriodora* no controle de fungos de sementes. In: **SIMPÓSIO DE PLANTAS**

MEDICINAIS DO BRASIL, 15. São Paulo, 1998. Anais...São Paulo, 1998.

- DUKE, S., UPADHYAY, P.D., TRIPATHI, S.C. Antifungal, physicochemical, and insect-repelling activity of the essential oil of *Ocimum basilicum*. **Canadian Journal Botany**, v.67,n.7, p.2085-2087, 1989.

- FREIRE, M. F. I., ABREU, H., CRUZ, L. C., FREIRE, R. B. Inibition of fungal growth by extract of *Veronia scorpioides (Lam) Pers.* **Ver. Microbial, São Paulo**, v.27, p1-6.1996.

- LASCA, C.C., VECHIATO, M., KOHARA, E.Y. Controle de fungos de sementes de *Brachiaria spp*: eficiência de fungicidas e influência do período de armazenamento de sementes tratadas sob a ação desses produtos. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.71, n.4, p.465-472, out./dez., 2004.

- MISHRA, D., DUBEY, N.K. Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. **Applied and Environmental Microbiology**, v.60, n.4, p.1101-1105, 1994.

- SILVA, P. V., ATANÁZIO, F. G., BRAGA, L. R. S., PASIN, L. A. A. P. Efeito de extrato de *Ruta graveolens L*, *Iboza riparia Brown*, *Cymbopogon citratus Staupf* na incidência fúngica das sementes de *Achyrocline satureioides D. C.* In: Congresso aberto aos estudantes de Biologia, VII, Centro de Cnvenções – Unicamp, 10 a 14 de out, 2005. **Anais do VII Congresso aberto aos estudantes de Biologia. Unicamp – CAEB**, 2005. p. 152.

- TEMPE, J. The blotter method for seed health testing. **Proceeding International of the Testing Association**, Copenhagen, v. 28, n. 1, p. 133-151, Jan.1963.

- VIEGAS, E.C., SOARES, A., CARMO, M.G.F., ROSSETTO, C.A.V. Toxicidade de óleos essenciais de alho e casca de canela contra fungos do grupo *Aspergillus flavus*. **Horticultura Brasileira, Brasília**, v.23, n.4, p.915-919, out-dez 2005.