

## INIBIÇÃO *IN VITRO* DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIODES*, POR ÓLEO ESSENCIAL DE *EUCALYPTUS CITRIODORA* E *CYMOPOGON CITRATUS*

**Leandro Guarnier de Aguiar<sup>1</sup>, Amilton José Pereira<sup>1</sup>, Marcelo Vivas<sup>2</sup>, Silvaldo Felipe da Silveira<sup>2</sup>, Willian Bucker Moraes<sup>3</sup>, Waldir Cintra de Jesus Junior<sup>3</sup>, Dalza Gomes da Silva<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Centro Universitário São Camilo, Cachoeiro de Itapemirim – ES. E-mail: [leandromarape@yahoo.com.br](mailto:leandromarape@yahoo.com.br), [bioamilton@gmail.com](mailto:bioamilton@gmail.com),

<sup>2</sup>Universidade Est. do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos – RJ. E-mail: [mrclvivas@hotmail.com](mailto:mrclvivas@hotmail.com), [silvaldo@uenf.br](mailto:silvaldo@uenf.br)

<sup>3</sup>Universidade Fed. do Espírito Santo, Produção Vegetal, Alegre – ES. E-mail: [moraeswb@hotmail.com](mailto:moraeswb@hotmail.com), [wcintra@cca.ufes.br](mailto:wcintra@cca.ufes.br)

<sup>4</sup>Doutora em Fitopatologia (UFV), Cachoeiro de Itapemirim – ES. E-mail: [agro.biol@hotmail.com](mailto:agro.biol@hotmail.com)

**Resumo-** O fungo *C. gloeosporioides* é responsável por grandes perdas na cultura do mamoeiro. Com o objetivo de minimizar o uso de agrotóxicos, avaliou-se o efeito inibitório do óleo essencial de *E. citriodora* e *C. citratus* sobre o crescimento micelial deste patógeno. Foi utilizado o isolado CCA-F2 de *C. gloeosporioides*, obtido pelo Laboratório de Fitopatologia da CCAUFES. O óleo essencial foi extraído pelo método de arraste a vapor no Laboratório de Química do Centro Universitário São Camilo - ES. Procedeu-se à avaliação no Laboratório da UENF. Foram testadas seis concentrações (0, 250, 500, 750, 1000, 1500 µL/L) diluídos em meio BDA em quatro repetições. Nas placas de Petri contendo o meio de cultura, foram semeados discos de 5 mm da colônia do fungo. As avaliações foram realizadas diariamente do 3º ao 8º dias, após a semeadura. Os dados foram analisados estatisticamente pelo teste de log-probit, empregando o Programa SAEG. Verificou-se 100% de inibição do crescimento micelial com óleo de *C. citratus* nas concentrações de 1000µL/L a 1500µL/L. O óleo de *E. citriodora* obteve 61% de inibição na concentração de 1500µL/L.

**Palavras-chave:** Antracnose, Controle alternativo, Doenças de Pós-Colheita do Mamoeiro

**Área do Conhecimento:** Ciências Agrárias

### Introdução

A fruticultura é uma das principais atividades econômicas da agricultura por se constituir em uma excelente opção de renda para os produtores rurais e promover a valorização das terras. Dantas et al. (2003) e Alves (2003) relatam que o Brasil é uma das nações que apresenta a maior produção de mamão no mundo, estimada em 1.450.000 toneladas métricas/ano. Dantas et al. (2003) apesar da produção excelente, ocorre um grande volume de perdas, que correspondem em média a 30% do total produzido, sendo que o mamão pode atingir 75% de perdas pós-colheitas e na fase de comercialização e exportação de frutos in natura causada por fitopatógenos.

Ventura, Costa e Tatagiba (2003) relatam a importância das doenças em pós-colheita do mamoeiro, destacando a antracnose, causada por *Colletotrichum gloeosporioides*. O fungo infecta a planta e os frutos em qualquer estágio de desenvolvimento e permanece quiescente até que os frutos se tornem maduros, podendo a penetração ser de forma direta, através de um *peg* de infecção ou por ferimentos, o que se constitui

em um fator limitante a exportação de mamão, pois nos meses mais quentes do ano, na ausência de medidas de controle, sua incidência pode atingir de 70 a 100% dos frutos.

Com uma crescente busca e valorização para alimentos que proporcionam melhoria na qualidade de vida, e bem estar das pessoas priorizando a saúde humana e respeitando o meio ambiente. A utilização do uso de extratos vegetais, na questão da redução dos prejuízos causados por fitopatógenos de origem fúngica nas doenças de pós-colheita, constitui uma alternativa viável e desejável em relação ao químico tradicional, principalmente em função de não deixarem resíduos tóxicos nos frutos (RIBEIRO e BEDENDO, 1999).

Considerando o potencial de inibição de vários óleos essenciais no crescimento micelial, este trabalho teve como objetivo testar várias concentrações do óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* e *Cymbopogon citratus* sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*.

## Metodologia

No ensaio de avaliação do crescimento micelial, foi empregado o isolado CCA-F2 (sigla utilizada para identificação do isolado na micoteca) de *Colletotrichum gloeosporioides*, obtido de frutos de mamoeiro, da micoteca do Laboratório de Fitopatologia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre – ES.

O óleo essencial foi extraído por meio de hidrodestilação (método de arraste a vapor específico para extração de óleo essencial) utilizando folhas de *Eucalyptus citriodora* e *Cymbopogon citratus*, conforme recomendações de Vivas (2005), no Laboratório de Química do Centro Universitário São Camilo – Espírito Santo. O isolado *Colletotrichum gloeosporioides* (CCA-F2), foi transportado para o Laboratório do Centro de Ciências e Tecnologia em Agropecuária da Universidade Estadual Norte Fluminense, Campos – RJ, onde foi repicado para a instalação do experimento.

Os ensaios experimentais foram realizados adicionando-se alíquotas do óleo essencial em diferentes concentrações (0, 250, 500, 750, 1000 e 1500µL/L) ao meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar), fundente, e vertido em placas de Petri em quatro repetições para cada tratamento. Ao centro de cada placa, foi depositado um disco de 5 mm de diâmetro da cultura do fungo, com sete dias de crescimento. As placas foram distribuídas aleatoriamente em incubadora BOD à temperatura de 25°C. Em seguida procedeu-se à avaliação diária do crescimento radial da colônia em dois eixos ortogonais, do 3º ao 8º dia após a repicagem.

Os dados foram analisados conforme Silveira (2003), utilizando cálculos das porcentagens de inibição, com a seguinte fórmula:  $PICM = \frac{(DT - Dn)}{(DT - 5)} \times 100$ ; na qual PICM = porcentagem crescimento micelial; Dn = média das duas medições (mm) de diâmetro das colônias do tratamento n; Dt = média das duas medições (mm) na testemunha (sem fungicida); 5 = diâmetro dos discos, em milímetro. Para cada combinação de óleo-fungo, calculou-se o valor de EC50 (concentração inibitória do crescimento micelial em 50%), por meio de regressão linear e transformação log-probit (Programa SAEG - Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas), (EUCLIDES, 1983).

## Resultados

Os resultados do tratamento contendo óleo essencial de *Cymbopogon citratus*, nas diferentes concentrações podem ser observados na Tabela 01. O óleo de *Cymbopogon citratus* reduziu significativamente o crescimento micelial do

isolado *Colletotrichum gloeosporioides* (CCA-F2). Neste tratamento, a partir da concentração de 250µL/L, obteve-se a inibição de 66,02%, constando-se a partir desta concentração um crescente aumento das porcentagens na utilização das demais concentrações, 500µL/L (90,20%), 750µL/L atingindo 94,33% de inibição. Já nas concentrações do óleo na faixa de 1000µL/L a 1500µL/L, obteve-se valores superiores em relação às concentrações iniciais, apresentando valores iguais a 100% de inibição do isolado CCA-F2.

O tratamento com óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*, o isolado CCA-F2 começou a responder a sensibilidade de inibição ao óleo na concentração de 250µL/L em 42,94%, e respectivamente a 500µL/L (46,64%), 750µL/L (58,84%), 1000µL/L (59,27%) e 1500µL/L (61,01%).

**Tabela 01:** Inibição do crescimento micelial (%) de *Colletotrichum gloeosporioides*, em meio de BDA, contendo diferentes concentrações de óleos essenciais (médias de quatro repetições).

Óleo essencial	Concentrações (µL/L)					
	0	250	500	750	1000	1500
<i>C. citratus</i>	0	66,02	90,20	94,33	100,00	100,00
<i>E. citriodora</i>	0	42,94	46,64	58,84	59,27	61,01

Pelos valores EC50 (concentração inibitória do crescimento micelial em 50%) conforme a Tabela 02 observar-se claramente a diferença nas concentrações de ambos os óleos. O óleo de *Cymbopogon citratus*, com dose menor (EC50 186,742µL/L com intervalo de confiança: inferior 163,417µL/L e superior 208,029µL/L) inibiu o crescimento micelial, demonstrando-se maior eficiência com uma porção pequena, em relação ao óleo de *Eucalyptus citriodora*, que necessitou de uma quantidade maior (EC50 485,590µL/L com intervalo de confiança: inferior 371,615µL/L e superior 590,880µL/L) para inibição do fungo.

**Tabela 02:** Valores de concentração dos óleos essenciais em meio de BDA que inibe o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* em 50% (EC50).

Óleo essencial	EC50 (µL/L)	Limites de intervalo de confiança (=5%)	
		Inferior	Superior
<i>C. citratus</i>	186,74	163,41	208,03
<i>E. citriodora</i>	485,59	371,61	590,88

\* (= 5%) referente a margem de erros.

## Discussão

Os resultados encontrados evidenciam que para o controle de inibição do crescimento micelial do isolado CCA-F2, o óleo essencial de *Cymbopogon citratus* mostrou melhor concentração acima de 1000µL/L a 1500µL/L com o percentual de 100% de inibição, e também respondendo a sensibilidade a EC50 com 186,742µL/L. O óleo de *Eucalyptus citriodora* com a concentração de 1500µL/L com porcentagem de 61,01% de inibição apresentam uma diferença de 39,99% da atividade do óleo de *Cymbopogon citratus*, prevalecendo um efeito acentuado contra o isolado CCA-F2.

Resultados encontrados estão em concordância com os apontados por Vivas (2005) que testou o óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* e *Cymbopogon citratus* sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum acutatum*, causador da flor preta do morangueiro, proporcionando uma inibição de 100% nas concentrações acima 2000 µL/L para ambos os óleos testados. Fiori et al. (2000) observou uma inibição de 100% trabalhando com o óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* e *Cymbopogon citratus* no desenvolvimento *in vitro* do crescimento micelial de *Didymella bryoniae*.

## Conclusão

Os testes biológicos demonstraram o potencial de *Cymbopogon citratus* sobre o crescimento micelial do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, evidenciando assim, que tal planta apresenta compostos fungitóxico, uma vez que inibiu 100% o crescimento do fungo nas concentrações acima de 1000µL/L.

O efeito observado ratifica a utilização do óleo essencial da planta como mais uma alternativa aos agrotóxicos. Fato que poderá contribuir futuramente para redução na utilização dos agrotóxicos, bem como a produção de alimentos mais saudáveis.

## Referências

- ALVES, F.L. A Cultura do Mamão *Carica papaya* L no mundo, no Brasil e no Estado Espírito Santo. In: MARTINS, D.S.; COSTA, A.F.S. **A cultura do Mamoeiro: tecnologias de produção**. Vitória: Incaper, p. 13, 2003.
- DANTAS, S.A.F. et al. Doenças fungicas pós-colheita em mamões e laranjas comercializados na central de abastecimento do Recife. **Fitopatologia Brasileira**. v. 28 n. 5, set/out. 2003.

- EUCLIDES, R.F. Sistema para análises estatísticas e genéticas (SAEG). Divisão de pesquisa e desenvolvimento/CPD, UFV, Viçosa, 1983.
- FIORI, A.C.G. et al. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. **Journal Phytopathology**. v.148, p. 483-487, 2000.
- RIBEIRO, L.F; BEDENDO, I.P. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* – agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. **Scientia Agrícola**. v.56, n. 4, p. 1267-1271, out/dez. 1999.
- SILVEIRA, S. F. et al. Controle químico da mela de estacas e da queima de folha de eucalypto, causadas por *Rhizoctonia* spp. **Fitopatologia brasileira**. v 28, p. 642-649, 2003.
- VENTURA, J.A; COSTA, H; TATAGIBA, J.S. Manejo das Doenças do Mamoeiro. In: MARTINS, D.S.; COSTA, A.F.S. **A cultura do Mamoeiro: tecnologias de produção**. Vitória: Incaper, p. 229-308, 2003.
- VIVAS, M. Avaliação *in vitro* do efeito do extrato bruto aquoso e óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (D.C) e *Eucalyptus citriodora* Hook sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum acutatum* Smmonds. 2005. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas). Centro Universitário São Camilo – Espírito Santo. Cachoeiro de Itapemirim.