

Atividade Antifúngica de Óleos Essenciais de Espécies de Hyptidinae (Lamiaceae) sobre *Aspergillus niger* e *Rhizopus stolonifer*

Antifungal Activity of Essential Oils of Hyptidinae (Lamiaceae) Species on *Aspergillus niger* and *Rhizopus stolonifer*

*Uiliane Soares dos Santos*¹; *Lenaldo Muniz de Oliveira*²; *Jackson Rafael de Sá Carvalho*³; *Evelyn Sophia Silva Costa*⁴; *Edna Santos de Barros*⁵; *Pedro Martins Ribeiro Júnior*⁶; *Ana Valéria Vieira de Souza*⁷

Abstract

Considering the importance of searching alternative and more sustainable ways of controlling post-harvest diseases in grapes, the present work aimed to evaluate the fungitoxic activity of essential oils of the species *Eplingiella fruticosa*, *Gymneia platanifolia* and *Medusantha martiusii* on the mycelial growth of *Aspergillus niger* and *Rhizopus stolonifer* that cause post-harvest rotteness. The essential oils were extracted using

¹Doutoranda em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade de Feira de Santana (Uefs), Feira de Santana, BA.

²Prof. Dr. Universidade de Feira de Santana (Uefs), Feira de Santana, BA;

³Estudante de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Pernambuco (UPE), Petrolina, PE.

⁴Mestranda em Recursos Genéticos Vegetais, Uefs, Feira de Santana, BA.

⁵Química, M.Sc. em Microbiologia Aplicada, analista da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

⁶Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

⁷Engenheira-agrônoma, D.Sc. em Horticultura, pesquisadora da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

the hydrodistillation technique. Furthermore, in order to evaluate the antifungal activity, it was conducted the test of mycelial growth using discs consisting of structures from the studied fungi, which were deposited in Petri dishes containing homogenized PDA culture medium with the oils at different concentrations. The essential oils of *E. fruticosa*, *G. platanifolia* and *M. martiusii* showed low or no direct toxicity to the *A. niger* fungus and the essential oil of *E. fruticosa* presents, from 500 $\mu\text{L mL}^{-1}$, direct toxic effect to *R. stolonifer* with inhibition of the mycelial growth above 60%.

Palavras-chave: podridão pós-colheita, fungos fitopatogênicos, plantas medicinais.

Keywords: post-harvest rottenness, phytopathogenic fungi, medicinal plants.

Introdução

As doenças pós-colheita representam uma das causas mais severas de perdas de frutas e hortaliças, elevando o custo de produção (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Dentre elas, destacam-se as infecções causadas por fungos, que são responsáveis por 80% a 90% do total das perdas pós-colheitas causadas por agentes microbianos (OLIVEIRA et al., 2006).

Dentre os patógenos associados às podridões na pós-colheita, encontram-se os fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Rhizopus* que, após infectarem a fruta, colonizam rapidamente os tecidos, com manifestação imediata de sintomas de podridão (OLIVEIRA et al., 2006). Algumas alternativas de controle são utilizadas no intuito de reduzir a atividade desses patógenos e minimizar a ocorrência de podridões.

A família Lamiaceae possui aproximadamente 300 gêneros e 7.500 espécies distribuídas em diferentes continentes (HARLEY et al., 2010). Por causa da composição fitoquímica, as plantas pertencentes a essa família são alvos constantes de pesquisas, pois possuem importante valor econômico (VEIGA-JÚNIOR; MELLO, 2008). Em alguns estudos é relatada a elevada ação tóxica, com propriedades antifúngicas comprovadas em fitocompostos ativos presentes em espécies dessa família (BENINI et al., 2010; SOUZA et al., 2004).

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a ação fungitóxica in vitro de óleos essenciais de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. ex Benth.) Harley & J.F.B. Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B. Pastore e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B. Pastore sobre o crescimento de *Aspergillus niger* Van Tieghem e *Rhizopus stolonifer* (Ehrens.: Fr.) Vuill, agentes causais de podridões em pós-colheita de frutas.

Material e Métodos

As folhas de *E. fruticosa* e de *M. martiusii* foram provenientes da Coleção de Plantas Medicinais e Aromáticas da Unidade Experimental do Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana (Uefs), localizada no Município de Feira de Santana, BA e as folhas de *G. platanifolia* foram coletadas no *Campus* da Uefs.

As excisatas de *E. fruticosa*, *G. platanifolia* e *M. martiusii* encontram-se depositadas no herbário da Uefs (Huefs), sob os números 221432, 221433 e 224164, respectivamente. As coletas foram realizadas entre os meses de julho e setembro de 2014.

Para a extração dos óleos essenciais, foram adicionados 100 g de folhas secas em balão de vidro contendo água destilada. Empregou-se o método de extração por hidrodestilação, utilizando-se o aparelho de Clevenger. A extração foi conduzida durante 3 horas, contadas a partir da condensação da primeira gota, sendo verificado o volume de óleo extraído na coluna graduada do aparelho. Após a extração, os óleos essenciais foram acondicionados em frascos de cor âmbar e mantidos em freezer a uma temperatura de -20 °C, até a avaliação da atividade antifúngica.

O teste de crescimento micelial foi realizado no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Semiárido, no Município de Petrolina, PE. Os fungos utilizados foram provenientes da coleção de fungos do referido laboratório.

Para a avaliação da atividade antifúngica, foi empregada a metodologia de difusão em ágar (FERNANDES et al., 2015) com adaptações. Os óleos essenciais foram dissolvidos utilizando-se 3 mL de DMSO (dimetilsulfóxido) puro para homogeneização em 1 L do meio BDA (batata, dextrose e ágar) fundente. Em seguida, o meio foi suplementado com as concentrações de 125 $\mu\text{L L}^{-1}$, 250 $\mu\text{L L}^{-1}$, 500 $\mu\text{L L}^{-1}$ e 1.000 $\mu\text{L L}^{-1}$ dos óleos essenciais.

Após a solidificação do meio, discos de 5 mm de diâmetro contendo o micélio dos fungos *A. niger* com 15 dias de crescimento e de *R. stolonifer* com 2 dias de crescimento foram depositados no centro das placas de Petri. Como testemunhas, utilizou-se o BDA (testemunha absoluta), DMSO (dose 0) e o fungicida Iprodiona (500 g L^{-1}) na concentração de $2.000 \mu\text{L L}^{-1}$ (controle positivo). As placas foram mantidas em temperatura ambiente por 2 dias para *R. stolonifer* e 15 dias para *A. niger*.

A avaliação foi realizada por meio de medições do crescimento radial das colônias fúngicas com uma régua. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro utilizando-se o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2011).

Resultados e Discussão

De maneira geral, os óleos avaliados nas concentrações de $125 \mu\text{L mL}^{-1}$ a $1.000 \mu\text{L mL}^{-1}$ apresentaram maior toxidez ao *R. stolonifer* do que a *A. niger*. O óleo essencial de *E. fruticosa* proporcionou maior inibição do crescimento micelial de *A. niger* em todas as concentrações testadas, diferindo dos demais óleos, contudo, essa inibição foi muito baixa, variando de 4,3% a 7,3% em relação à testemunha com DMSO.

O fungicida apresentou maior inibição do crescimento micelial deste fungo (28,1%), diferindo dos demais tratamentos. O DMSO, utilizado na miscibilidade dos óleos ao meio de cultura BDA, não afetou o crescimento dos fungos, pois não diferiu da testemunha apenas com meio de cultura BDA (Tabela 1).

Estes resultados diferem dos relatados por Diniz et al. (2008), segundo os quais o óleo essencial de *Mentha arvensis* L. (Lamiaceae) foi capaz de inibir o crescimento micelial de *Aspergillus* sp., *Penicillium rubrum* Stoll, *Sclerotinia* sp., *Fusarium moniliforme* (J. Sheld.) e *Corynespora cassiicola* (Berk. & M.A. Curtis) C.T. Wei, quando aplicado na concentração de $100 \mu\text{L mL}^{-1}$.

Tabela 1. Diâmetro das colônias (cm) de *Aspergillus niger* e *Rhizopus stolonifer* sob diferentes concentrações de óleos essenciais de *Eplingiella fruticosa*, *Gymneia platanifolia* e *Medusantha martiusii* e a inibição no crescimento micelial (%). Feira de Santana, BA, 2017.

Tratamentos	Concentrações ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	A. niger	Inibição (%)	R. stolonifer	Inibição (%)
E. fruticosa	125	7,31 b	6,8	7,46 g	17,1
	250	7,40 b	5,6	6,43 e	28,6
	500	7,50 b	4,3	3,54 b	60,7
	1000	7,27 b	7,3	2,98 a	66,9
G. platanifolia	125	7,89 d	-0,6	8,47 j	5,9
	250	8,01 d	-2,2	7,75 h	13,9
	500	8,15 d	-4,0	8,18 i	9,1
	1000	8,05 d	-2,7	3,91 c	56,6
M. martiusii	125	8,04 d	-2,6	6,95 f	22,8
	250	8,19 d	-4,5	7,75 h	13,9
	500	8,22 d	-4,8	6,23 e	30,8
	1000	7,75 c	1,1	4,61 d	48,8
BDA	-	7,77 c	0,9	9,00 l	0,0
DMSO	-	7,84 c	-	9,00 l	-
Fungicida	2000	5,64 a	28,1	3,75 c	58,3
CV(%)	-	3,42	-	3,43	-

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, não diferenciam entre si pelo teste de Scott-Knott (α 5%). BDA: Meio de cultura (batata-dextrose-ágar); DMSO: Dimetilsulfóxido; Fungicida: iprodiona. Inibição (%): inibição relativa ao tamanho da colônia da testemunha DMSO.

O óleo essencial de *E. fruticosa* foi capaz de proporcionar maior inibição para o fungo *R. stolonifer*, nas concentrações de 1.000 $\mu\text{L mL}^{-1}$ (66,9%) e de 500 $\mu\text{L mL}^{-1}$ (60,7%), obtendo-se assim resultados significativamente superiores aos encontrados para o fungicida (58,3%) (Tabela 1). O óleo de *G. platanifolia* na concentração de 1.000 $\mu\text{L mL}^{-1}$ não diferiu do tratamento com fungicida apresentando 48,8% de inibição do crescimento micelial. Os demais tratamentos apresentaram efeito fungistático direto inferior ao tratamento com o fungicida.

De acordo com Costa et al. (2011), a atividade antifúngica dos óleos essenciais pode estar relacionada com a hidrofobicidade que permite que suas moléculas interajam com os lipídeos da membrana celular, vacúolos e mitocôndrias, podendo alterar a permeabilidade,

acarretando distúrbios nestas estruturas, assim como a diminuição na rigidez da parede celular, fragmentação e menor turgescência das hifas de alguns fungos fitopatogênicos.

Conclusões

Os óleos essenciais de *E. fruticosa*, *G. platanifolia* e *M. martiusii* nas concentrações de 125 $\mu\text{L mL}^{-1}$, 250 $\mu\text{L mL}^{-1}$, 500 $\mu\text{L mL}^{-1}$ e 1.000 $\mu\text{L mL}^{-1}$ apresentaram baixa ou nenhuma toxicidade direta ao fungo *A. niger*.

O óleo essencial de *E. fruticosa* apresenta, a partir de 500 $\mu\text{L mL}^{-1}$, efeito tóxico direto a *R. stolonifer* com inibição do crescimento micelial acima de 60%.

Agradecimentos

À Embrapa Semiárido, à Capes e à Universidade Estadual de Feira de Santana.

Referências

- BENINI, P. C.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; KLAIS, E. C. Efeito *in vitro* do óleo essencial e extrato aquoso de *Ocimum gratissimum* colhido nas quatro estações do ano sobre fitopatógenos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 4, p. 677-683, 2010.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. rev. e ampl. Lavras: Ufla, 2005.
- COSTA, A. R. T.; AMARAL, M. F. Z. J.; MARTINS, P. M. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Paulínia, v. 13, n. 2, p. 240-245, 2011.
- DINIZ, S. P. S. S.; COELHO, J. S.; ROSA, G. S. Bioatividade do óleo essencial de *Mentha arvensis* L. no controle de fungos fitopatógenos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Paulínia, v. 10, n. 4, p. 9-11, 2008.
- FERNANDES, L. C. B. Fungitoxicidade dos extratos vegetais e do óleo essencial de *Lippia gracilllis* Schauer sobre o fungo *Monosporascus cannonballus* Pollack e Uecker. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 41, n. 2, p. 153-155, 2015.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

HARLEY, R. M.; FRANÇA, F.; SANTOS, E. P.; SANTOS, J. S. Lamiaceae. In: FORZZA, R. C.; BAUMGRATZ, J. F.; BICUDO, C. E. M.; CARVALHO JÚNIOR, A. A.; COSTA, A.; COSTA, D. P.; HOPKINS, M.; LEITMAN, P. M.; LOHMANN, L. G.; MAIA, L. C.; MARTINELLI, G.; MENEZES, M.; MORIM, M. P.; COELHO, M. A. N.; PEIXOTO, A. L.; PIRANI, J. R.; PRADO, J.; QUEIROZ, L. P.; SOUZA, V. C.; STEHMANN, J. R.; SYLVESTRE, L. S.; WALTER, B. M. T.; ZAPPI, D. (Org.). **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. p. 1130-1146.

OLIVEIRA, S. M. A.; TERAPO, D.; DANTAS, S.A.F. **Patologia pós colheita**: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica. 2006, 855 p.

SOUZA, E. L. de; SOUSA, C. P. de; LIMA, E. de O.; FREIRE, K. R. de L. Sensibilidade de fungos filamentosos isolados de alimentos, frente a extratos vegetais. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 124, p. 89-91, set. 2004.

VEIGA-JÚNIOR V. F.; MELLO, J. C. P. As monografias sobre plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 18, p. 464-471, 2008.