

POTENCIAL DA ERVA MEDICINAL (*Cymbopogon citratus*) NO CONTROLE DE FITOPATÓGENOS DO FEIJOEIRO¹

Pedro José Valarini²
Rosa T.S. Frighetto²
Itamar S. de Melo²

INTRODUÇÃO

As plantas superiores produzem metabólitos secundários com efeitos sobre outros organismos vivos. Na grande indústria dos fármacos estes compostos podem possuir propriedades tais como analgésicas, anticancerígenas, antibióticas, anti-inflamatórias, sedativas e hipotensivas.

No controle de pragas agrícolas, três classes de inseticidas botânicos são importantes: os alcalóides relacionados a nicotina, piretróides e rotenóides. No tocante ao controle de doenças de plantas, os estudos são ainda modestos, mas demonstram o potencial de sua utilização (MUKHERJEE & BISMAS, 1981; KISHORE et alii, 1989; FAWCETT & SPENCER, 1970; BEYE, 1978; KHAN et alii, 1974; ROSS et alii, 1989; SINGH et alii, 1980).

Na cultura do feijoeiro, diversos patógenos de raízes têm sido fatores limitantes à produção de grãos. Entre estes citam-se: *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*. O controle desses patógenos se baseia quase exclusivamente na utilização de fungicidas sintéticos, que nem sempre apresentam eficiência adequada, além de provocar efeitos danosos ao ambiente quando usados indiscriminadamente. Na busca de medidas alternativas para o controle de fitopatógenos, surge como opção viável o emprego de subprodutos naturais de plantas.

¹Trabalho parcialmente financiado pela FAPESP.

²EMBRAPA/CNPMA. Caixa Postal 69. CEP 13820-000 Jaguariúna-SP.

O presente trabalho teve por objetivo estudar o potencial do Capim-Limão ou Erva-Cidreira (*Cymbopogon citratus*) no controle de alguns fungos que atacam o feijoeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

A partir de materiais vegetais coletados em lavouras irrigadas da região de Guaíra-SP, fez-se em laboratório o isolamento dos fungos causadores de podridões de raízes de feijão e de tomate: *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*, em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) acrescido do antibiótico sulfato de estreptomicina a 1%.

O inóculo produzido dos fungos foi purificado e mantido na forma de micélio em frascos de vidro com água destilada esterilizada em temperatura ambiente, sob condições de laboratório.

Para testar a atividade antifúngica de *C. citratus* *in vitro*, utilizou-se a metodologia de difusão em ágar, que consistiu em colocar discos de micélio do fungo no centro da placa de Petri com BDA, incubar por 2 dias e, em seguida, perfurar 3 pequenos orifícios no meio de cultura, preenchidos com 0,1 ml de solução do extrato de *C. citratus* a 10%. Após 3 a 4 dias de incubação a 25°C, fez-se a avaliação através da determinação do tamanho do halo de inibição medido em mm e em porcentagem e através de uma escala de notas de fraca (+) até total (+++).

Em condições de casa-de-vegetação (telada), realizaram-se os ensaios para determinar a eficiência do *C. citratus*, aplicado a semente de feijão na forma de extrato, e incorporado ao solo na forma de pó, controle de *R. solani* e *F. solani* f. sp. *phaseoli*. As sementes foram imersas em suspensão aquosa a 10% do extrato vegetal de *C. citratus* durante 5 minutos e, em seguida, foram semeadas em vasos com solo pasteurizado, previamente infestado com os patógenos. Também, no mesmo solo infestado foi incorporado material vegetal (folha), seco e moído (pó), na

concentração de 30 g/kg de solo e, em seguida, fez-se o plantio de sementes de feijão. Realizaram-se quatro avaliações de emergência de plântulas de feijoeiro. Posteriormente, fez-se a avaliação *in vitro* da eficiência dos extratos fracionados de *C. citratus* sobre *R. solani* e *S. sclerotiorum*.

Cymbopogon citratus Stapf (família das Gramíneas), sinonímia *Andropogon citratus*, é conhecida no Brasil com nomes de Capim-Limão ou Erva-Cidreira (lemongrass). É rico em óleo essencial com grande emprego na indústria de perfumaria. Possui forte odor de limão devido à alta concentração do composto citral como seu componente principal. Da planta fresca, cortada em pedaços, foi extraído o óleo por arraste a vapor. O óleo foi separado da fase aquosa com cloreto de metíleno, secado sobre sulfato de sódio anidro e concentrado em evaporador rotativo. O óleo foi fracionado em coluna de sílica gel desativada, empacotada adicionando-se sílica gel suspensa em pentano. Passou-se várias vezes o solvente para melhor empacotamento da sílica. O óleo essencial foi adicionado na coluna e os componentes eluídos com pentano e gradiente pentano-éter etílico (5-100%). As frações foram coletadas e concentradas em evaporador rotativo. As placas de cromatografia em camada delgada de sílica (CCD) foram eluídas com hexano, hexano-éter 5% e hexano-acetato de etila a 10%, dependendo das frações, visualizadas em lâmpada de U.V., pulverizadas com revelador específico para terpenos, e em seguida aquecidas. O revelador específico para terpenos utilizado foi: 50 ml de ácido acético, 1 ml de ácido sulfúrico concentrado e 0,5 ml de anisaldeído. As frações semelhantes foram agrupadas e utilizadas para os testes de atividade antifúngica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeitos do Extrato de *C. citratus* sobre Fitopatógenos *in vitro*

O extrato, assim obtido, constituiu um óleo que, após

diluído, foi utilizado nos testes *in vitro*, usando-se para tanto aliquotas de 10 μl colocados em discos de papel de filtro e/ou incorporados diretamente em poços de 5 mm no meio de cultura.

O extrato de *C. citratus* obtido de folhas inibiu totalmente o crescimento micelial de *F. solani* f. sp. *phaeoleli* (Fs), *S. sclerotiorum* (Ss) e *Rhizoctonia solani* (Rs) (TABELA I). *S. rolfsii* mostrou-se mais resistente ao extrato, apesar de o produto ter diminuído sensivelmente o diâmetro médio das colônias do fungo.

C. citratus tem sido selecionada, dentre várias plantas mantidas, com atividade contra fitopatógenos, no Centro Nacional de Pesquisa de Monitoramento e Avaliação de Impacto Ambiental - CNPMA/EMBRAPA.

TABELA I. Atividade antifúngica de *Cymbopogon citratus* *in vitro*.

Tratamentos	Diametro da Colonia(cm) e atividade antifúngica			
	F.s.ph.	R.s.	S.s.c.	S.r.
Extrato de folha de <i>C. citratus</i>	0,0 (++++) ¹	0,0 (++++)	0,0 (++++)	2,7 (++)
Controle	9,0	9,0	9,0	9,0

¹ (+): fraca inibição; (++) : média; (++): alta; (+++): total.

Estudos com estes fungos já foram realizados (FERRACINI et alii, 1990; VALARINI et alii, 1991) e demonstraram o potencial de controle de *Chenopodium ambrosioides*, *Simaba cedron*, *Simaruba amara*, *Quassia* sp., *Pterocaulon balansae*, *Melia azedarach* e *Vouacapoua americana*. KISHORE et alii (1989) demonstraram que o tratamento do solo com

folhas de *C. ambrosioides* controlou o tombamento de plântulas de feijoeiro causado por *R. solani*.

Efeitos do Extrato de Folhas e do Pó de *C. citratus* sobre a Emergência de Sementes

O método de difusão do extrato em ágar mostrou-se eficiente para testar a atividade biológica de *C. citratus* contra *F. solani* e *R. solani*. O extrato de folhas de *C. citratus*, muito embora tenha apresentado atividade antifúngica in vitro, afetou a emergência de plântulas de feijão (TABELA II). No entanto, quando se utilizou a planta na forma de pó, esta aumentou a emergência de sementes, tanto em solo infestado com *Fs* e *Rs* (TABELA III) como em solo com eles não infestado. Verifica-se que *C. citratus* tem potencial de controle desses fitopatógenos, pois eles interferem na germinação de sementes e causam tombamento em pré-emergência (TABELAS II e III). O tratamento do solo infestado com *Fs* e *Rs*, com pó de *C. citratus*, proporcionou um índice de emergência de plântulas de 96,7% enquanto a sua não utilização provocou índices de emergência da ordem de 75,0 e 88,3%, em solos infestados com *R. solani* e *F. solani*, respectivamente. Também, quando se compararam os tratamentos que não receberam o pó e onde as sementes foram plantadas em solo não infestado, verifica-se diminuição de emergência de plântulas (TABELA III). Tais efeitos podem ser atribuídos a eliminação de microorganismos saprofíticos da rizosfera e/ou a patógenos secundários que interfeiram com a emergência, já que nesta fase a espermosfera propicia um micro habitat favorável ao desenvolvimento da microflora associada ao hospedeiro.

Alguns resultados têm sido relatados quanto à atividade de *C. citratus* contra *Verticillium albo-atrum*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *conglutinans*, *Ustilago avenae*, *Cladosporium fulvum*, *Ceratocystis ulmi*, *Diplodia maydis*, *Botrytis allii*, *Alternaria tenuis* e *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Maruzzella & Balter, 1959; citados por GRAINGE & AHMED, 1988).

TABELA II. Avaliação da emergência de plântulas de feijoeiro, a partir de sementes tratadas com pó e extrato de *C. citratus* e semeadas em solo infestado artificialmente com *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* (Fs).

Tratamentos	1 ^a .Aval.	2 ^a .Aval.	3 ^a .Aval.	4 ^a .Aval.	Médias
Testemunha (sementes sadias)	90,01	96,7	96,7	96,7	96,7
Test. (sem. sadias + Fs)	90,0	86,7	90,0	86,7	88,3
Sem. + <i>C. citratus</i> (pó)	96,7	96,7	96,7	96,7	96,7
Sem. + <i>C. citratus</i> (pó) + Fs	96,7	93,3	93,3	93,3	94,1
Sem. + Extr. <i>C. citratus</i>	70,0	70,0	70,0	66,7	69,2
Sem. + Extr. <i>C. citratus</i> + Fs	56,7	56,7	56,7	56,7	56,7

¹ Médias de 5 repetições, com 6 sementes por repetição.

TABELA III. Avaliação da emergência de plântulas de feijoeiro a partir de sementes tratadas com pó e extrato de *C. citratus* e semeadas em solo infestado artificialmente com *Rhizoctonia solani* (Rs).

Tratamentos	Plântulas emergidas (%)				Médias
	1. ^a Aval.	2. ^a Aval.	3. ^a Aval.	4. ^a Aval.	
Testemunha (sementes sadias)	86,7 ¹	86,7	86,7	83,3	85,0
Test. (sem. sadias + Rs)	80,0	76,7	73,3	70,0	75,0
Sem. + <i>C. citratus</i> (pô)	100,0	96,7	96,7	93,3	96,7
Sem. + <i>C. citratus</i> (pô) + Rs	100,0	100,0	93,3	86,7	95,0
Sem. + Extr. <i>C. citratus</i>	76,7	60,0	60,0	60,0	63,3
Sem. + Extr. <i>C. citratus</i> + Rs	70,0	60,0	56,7	60,0	61,7

¹ Médias de 5 repetições, com 6 sementes por repetição.

Isolamento e Fracionamento do Óleo Essencial de *C. citratus*.

O óleo essencial de *C. citratus* foi obtido por arraste a vapor, cuja técnica serve primeiramente para separar compostos orgânicos voláteis de não-voláteis. É conhecido da literatura que óleos essenciais de espécies odoríferas são ricos em compostos mono- e sesquiterpênicos. O óleo de *C. citratus* é a principal fonte de extração de citral, com teor de 75 - 80%. Possui, portanto, forte odor de limão (GUENTHER, 1949). A separação do óleo essencial em frações oxigenadas e de hidrocarbonetos foi feita com utilização de sílica gel desativada. As diferentes frações foram testadas contra *S. sclerotiorum* e *R. solani*. Verificou-se resultado diferenciado das frações quanto à atividade biológica (TABELA IV). Seis frações inibiram o crescimento micelial de *R. solani* e somente três foram inibitórias a *S. sclerotiorum*. Estas frações serão analisadas pro cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa para fins de identificação dos componentes ativos, que podem representar compostos com atividade antifúngica de importância na agricultura.

RESUMO

Para avaliar a eficiência da erva medicinal *Cymbopogon citratus* (Capim-Limão) no controle de *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* (Fs), *Rhizoctonia solani* (Rs), *Sclerotinia sclerotiorum* (Ss) e *Sclerotium rolfsii* (Sr) na cultura de feijoeiro, foram instalados ensaios *in vitro* e *in vivo*, utilizando material vegetal (folhas) em forma de extrato (suspensão aquosa a 10%) e de pó (material seco e moído) na concentração de 30 g/kg de solo. Para avaliar a atividade antifúngica do extrato *in vitro*, utilizou-se o método de difusão em ágar (BDA) e também a medida do halo de inibição. Em condições de casa-de-vegetação (telada) realizou-se o ensaio, comparando-se as formas de aplicação de *C. citratus* em tratamento de sementes (extrato) e em incorporação no solo (pó). A avaliação consistiu em determinar a emergência de plântulas. Posteriormente, reali-

zou-se a avaliação da eficiência dos extratos fracionados de *C. citratus* sobre Rs e Fs.

TABELA IV. Avaliação da atividade das frações do extrato de *Cymbopogon citratus* sobre *Rhizoctonia solani* (Rs) e *Sclerotinia sclerotiorum* (Ss).

Fração do Extrato	Diâmetro da colônia (mm)/atividade antifúngica ⁽¹⁾ (Rs)	(Ss)
4	70 (++)	—
5	85 (++)	80 (++)
7	60 (+++)	80 (++)
8	60 (+++)	80 (++)
10	90 (++)	—
13	80 (++)	—
16	—	—
42	—	—
44	—	—
Acetato de Etilia	65	—
Testemunha	90	90

(¹) (—): ausência de inibição; (+): fraca; (++): média; (+++): alta; (++++): total.

Os resultados mostraram que o extrato de *C. citratus* obtido de folhas inibiu totalmente o crescimento micelial de Fs, Ss e Rs, enquanto que Sr mostrou-se mais resistente, apesar de o produto diminuir sensivelmente o diâmetro médio das colônias do fungo. Por outro lado, o extrato de

folhas de *C. citratus* afetou a emergência, enquanto que o pó proporcionou aumento no índice de emergência da ordem de 96,7% contra 75,0% e 86,7% em solos somente infestados com Rs e Fs, respectivamente. Visto que as folhas de *C. citratus* mostraram seu potencial antifúngico quando incorporadas ao solo na forma de pó, a sua utilização pode ser explorada considerando que o material está prontamente disponível por baixo custo, para reduzir o potencial dos fungos patogênicos do feijoeiro.

Palavras-chave: *C. citratus*, controle de fitopatógenos, feijoeiro.

SUMMARY

EEFECT OF THE MEDICINAL HERBAGE *Cymbopogon citratus* ON CONTROL OF PHYTOPATHOGENIC FUNGI IN BEAN CROP

Studies were carried out to determine the effect of the medicinal herbage *Cymbopogon citratus* Staph (lemon grass) on control of *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* (Fs), *Rhizoctonia solani* (Rs), *Sclerotinia sclerotiorum* (Ss) and *Sclerotium rolfsii* (Sr), in bean crop (*Phaseolus vulgaris*), using the essencial oil isolated from leaves of *C. citratus* (10% in aqueous suspension) and ground lemon grass leaves (dry and fresh) incorporated in soil (30 g/kg of soil) 2 days after inoculation of fungi. To evaluate the efficiency and fungitoxicity of extract in vitro the agar diffusion method (PDA) was used and measured the inhibition of micelial growth of pathogens. In greenhouse an assay in pot was carried out comparing the seed treatment with extract with ground lemon grass incorpored in soil. The results obtained showed that the extract of leaves of *C. citratus* inhibited completely the micelial growth of Fs, Ss and Rs, while Sr showed to be less sensitive. The oil,at the concentration used, was found to be phytotoxic with respect to emergency while the ground lemon grass increased the emergency (96.7%) against 75.0%

and 86.7% in soils only infested with Rs and Fs, respectively. Since the leaves of *C. citratus* showed their anti-fungal potency when incorporated to the soil, they may be also exploited as a cheap and readily available source for the reduction of phytopathogenic fungi.

Key words: *C. citratus*, control of phytopathogenic fungi, bean crop.

LITERATURA CITADA

- BEYE, F., 1978. Insecticides from the Vegetable Kingdom. *Plant Res. Devel.*, 7: 13-31.
- FAWCETT, C.H. & D. SPENCER, 1970. Plant Chemotherapy with Natural Products. *Ann. Rev. Phytopath.*, 8: 403-418.
- FERRACINI, V.L.; I.S. MELO & R.T.S., FRIGETTO, 1990. Influência de Extratos de *Chenopodium ambrosioides* L. no crescimento micelial e germinação de escleródios de *Sclerotium rolfsii*. *Fitop. Bras.*, 15(2): 176.
- GRAINGE, M. & S. AHMED, 1988. *Handbook of Plants with Pest Control Properties*. New York, John Wiley & Sons. 470p.
- GUENTHER, E., 1949. *The Essential Oils*. Malabar, Florida, Robert E. Krieger Publishing Company. V. 4, p. 5-65. (reprint 1982).
- KHAN, M.W.; A.M. KHAN & S.K. SAXENA, 1974. Rhizosphere Fungi and Nematodes of Eggplant as Influenced by Oil-cake Amendments. *Indian Phytop.*, 27(4): 480-484.
- KISHORE, N.; O.P. SRIVASTAVA; N.K. DUBEY; S.N. DIXIT, 1982. Fungitoxicity of Leaves of *Chenopodium ambrosioides*. *Indian Perfumer*, 26(2): 228-230.
- KISHORE, N.; S.N. DIXIT & N.K. DUBEY, 1989. Fungitoxic Studies with *Chenopodium ambrosioides* for Control of Damping Off in *Phaseolus aureus* Caused by *Rhizoctonia solani*. *Trop. Sci.*, 29: 171-176.
- ROSS, S.A.; S.E. MECALLA; D.W. BISHAY; A.H. AWAD, 1989. Studies for Determining Antibiotic Substances in Some Egypten Plants. Part. I. Screening for Antimicrobial Activity. *Fitoterapia*, 51(6): 303-308.

- SINGH, A.K.; A. DISHIT; M.L. SHARMA; S.N. DIXIT, 1980. Fungitoxic Activity of Some Essential Oils. *Economic Botany*, 34(2): 186-190.
- VALARINI, P.J.; C.V. SADI; I.S. MELO; R.T.S. FRIGHETTO; V.L. FERRACINI, 1991a. Inhibition of Phytopathogens by Extracts from High Plants. In: *INTERNATIONAL PLANT PROTECTION CONGRESS*, 12., Rio de Janeiro. *Anais*.
- VALARINI, P.J.; I.S. MELO; R.T.S. FRIGHETTO; V.L. FERRACINI, 1991b. Avaliação de Extratos Vegetais no Controle de Fitopatógenos do Feijoeiro. In: *SEMINÁRIOS SOBRE PRAGAS E DOENÇAS DO FEIJOEIRO*, 4., Campinas. *Resumos*. Campinas, Instituto Biológico. p. 26