

## Capítulo 9

# Óleos Essenciais no Controle Fitossanitário

Lilia Aparecida Salgado de Moraes

*Embrapa Meio Ambiente. CP 69; 13820-000 Jaguariúna, SP, Brasil, e-mail: lilia@cnpma.embrapa.br*

### Introdução

Os produtos naturais foram utilizados até a metade do século XIX para o controle de pragas e doenças agrícolas. Dentre estes, os à base de *Chrysanthemum cinerariaefolium*, *Chrysanthemum roseum*, *Chrysanthemum coccineum* (fontes de piretro), *Derris* spp. e *Lonchocarpus* spp. (fontes de rotenona) e *Nicotiana* (fonte de nicotina) eram utilizados, principalmente, como inseticidas e fungicidas. No início do século XX, produtos com maior toxidez começaram a ser utilizados. Além das plantas, também foram utilizados preparados à base de enxofre, sabão, óleo de baleia, boro e arsênico (Boyce, 1974). Nesta época já havia estímulo para a substituição de alguns produtos por outros de menor toxicidade ao homem, principalmente os arsenicais, porém, não havia ainda a preocupação sobre o uso contínuo destes produtos no ambiente. Notava-se um incentivo ao uso de preparados à base de plantas (Decker, 1942). Durante a Segunda Guerra Mundial, grandes áreas de cultivo de plantas usadas como defensivos naturais foram dizimadas ou tiveram seu fornecimento suspenso, o que ocasionou uma busca por outros produtos que pudessem substituir os naturais. Assim, teve início a fase dos produtos sintéticos para o controle fitossanitário, o que aparentava ser a solução para a agricultura mundial, substituindo completamente os defensivos naturais. O seu uso contribuiu para que ocorressem grandes mudanças, como o aumento das áreas de cultivo, redução do número de trabalhadores nas lavouras e aumento na produtividade. Práticas agrícolas até então utilizadas, como a rotação e o consórcio de culturas, passaram a ser pouco ou não mais utilizadas, principalmente em áreas de cultivo extensivo (Saito & Lucchini, 1998).

Nos anos subsequentes, alguns problemas começaram a surgir. Os produtores notaram que a utilização dos agrotóxicos não podia garantir o controle de pragas e fitopatógenos por um longo tempo. Esses agrotóxicos causavam a eliminação de inimigos naturais, insetos e microrganismos benéficos ao ambiente e ao homem; contribuía na seleção de organismos-alvo resistentes, o que significava a necessidade de utilização de maiores quantidades de produtos gerando mais danos ecológicos e poluição ambiental. Quando os produtos perdiam a eficiência, fazia-se a substituição por novos agrotóxicos, o que, conseqüentemente, dava início a um novo ciclo de desequilíbrios (Mariconi, 1981).

Na década de 1970, os agrotóxicos sintéticos passaram a ser mais seletivos, com menor espectro de ação, bem como menor persistência no ambiente. Iniciava-se o processo de conscientização de que era melhor reduzir a população de pragas e patógenos-alvo no período de maior incidência, do que a tentativa de total erradicação e conseqüente contaminação do ambiente e dos alimentos (Saito & Lucchini, 1998; Vieira & Fernandes, 1999). Assim, surgiu a necessidade de resgatar a utilização de substâncias naturais, biologicamente ativas, contra as pragas e patógenos, bem como a utilização de controle biológico. Outro fator importante que contribuiu para o interesse pelas substâncias naturais foi o avanço do sistema orgânico de produção. Com isso, houve necessidade de se buscar práticas agrícolas de baixo impacto ambiental, que substituíssem os métodos convencionais de controle de pragas e doenças.

Algumas plantas produzem compostos secundários, que podem ser utilizados para o desenvolvimento de novos defensivos naturais ou serem precursores de semi-síntese química, no desenvolvimento de produtos. Neste capítulo, será abordada a aplicabilidade dos óleos essenciais no controle fitossanitário.

## **Substâncias Provenientes do Metabolismo Secundário**

Metabolismo é o conjunto de reações químicas que ocorrem continuamente nas células, direcionadas pela ação de enzimas. Estas reações visam, inicialmente, sintetizar compostos como açúcares, aminoácidos, nucleotídeos e alguns polímeros, dentre outros, que vão garantir a sobrevivência dos organismos. Por ser a síntese destes compostos comuns aos seres vivos e diretamente relacionadas à manutenção da vida, são considerados integrantes do metabolismo primário. O metabolismo secundário difere do primário pelo fato de a produção das substâncias estar restrita na natureza e limitada a um menor número de espécies. Os metabólitos secundários, como são chamados os produtos derivados do metabolismo secundário, não estão diretamente ligados à manutenção da vida do vegetal, porém, conferem vantagens à sua sobrevivência (Santos, 1999), permitindo melhor adaptação às condições impostas pelo ambiente (Gros *et al.*, 1985). Sabe-se que o metabolismo primário influencia diretamente no secundário, porém, a interface entre ambos ainda não é muito clara.

Os compostos secundários sintetizados pelas plantas são provenientes de três precursores principais: ácido chiquímico ou chiquimato, que origina compostos aromáticos, ligninas e cumarinas; aminoácidos, de onde derivam alguns alcalóides e o acetato. Este último pode ser redirecionado em outras três vias: condensação, ácido cítrico e mevalonato. Por meio da condensação são originados os ácidos graxos e as acetogeninas. Pela via do ácido cítrico são sintetizados outros tipos de alcalóides. A via do mevalonato é responsável pela síntese dos isoprenóides, que dão origem aos terpenos, componentes dos óleos essenciais. Há também compostos derivados da ligação entre o ácido chiquímico e o acetato, gerando uma rota sintética mista. Estes são os flavonóides, alguns taninos e as antraquinonas (Mann, 1987; Di Stasi, 1996).

A síntese dos metabólitos secundários é regida pelas informações genéticas que compõem o vegetal, porém, esta pode ser redirecionada devido à ação de fatores bióticos (microrganismos, insetos ou plantas) e abióticos (luz, temperatura e estresse hídrico, entre outros), que podem gerar situações de estresse ao vegetal. Estas alterações na rota sintética e sua possível interferência nos resultados dos ensaios de atividade sobre fitopatógenos também serão abordados neste capítulo.

## **Funções dos Metabólitos Secundários nos Vegetais**

Inicialmente, os metabólitos secundários foram considerados produtos finais do metabolismo primário ou mesmo resíduos, que seriam excretados, sem apresentar utilidade para o vegetal. No início do século XX, o uso destes compostos para fins medicinais e industriais já era amplamente conhecido, porém, apenas na década de 1960, pesquisadores começaram a observar que estes apresentavam funções ecológicas importantes para os vegetais.

Os vegetais se defendem pelo quimismo, pois as plantas não têm como se deslocar de um ambiente para outro com condições ambientes mais favoráveis à sua sobrevivência. Nem todas as funções dos metabólitos secundários na planta que o produz são conhecidas. Entretanto, são conhecidas as funções que garantem a sobrevivência dos vegetais na natureza como: proteção contra herbivoria (deterência, repelência e toxidez), atração de polinizadores ou dispersores de sementes, proteção aos raios ultravioleta, alelopatia e a atração de inimigos naturais.

As fitoalexinas são metabólitos secundários de baixo peso molecular, sintetizados pelos vegetais em resposta a estresses físicos, químicos ou biológicos. É um mecanismo de resistência a microrganismos patogênicos, pois se acumulam ao redor do tecido após infecção ou injúria, e possuem atividade antimicrobiana, sendo uma estratégia de sobrevivência de alguns vegetais. A indução de produção de fitoalexinas indica a presença de composto(s) com características eliciadoras e foram identificadas em mais de 20 famílias botânicas de vegetais superiores, caracterizando-se mais de 300 fitoalexinas, de diferentes classes de compostos químicos (cumarinas, flavonóides, sesquiterpenos). Tem-se como exemplo os sesquiterpenos risitina e capsidiol produzidos por algumas espécies de solanáceas (Taiz & Zeiger, 2004).

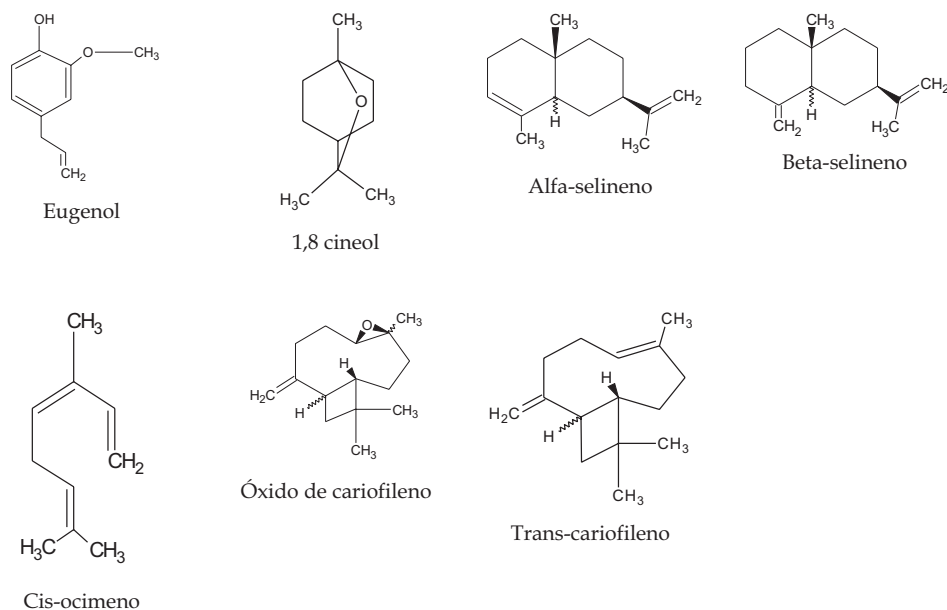
Geralmente, as fitoalexinas não estão presentes nas plantas antes da infecção, porém, são sintetizadas após o ataque do patógeno, em função da ativação de novas rotas metabólicas. O ponto de controle é o início do processo de transcrição do gene. Isto demonstra que as plantas não armazenam as enzimas responsáveis pela síntese de fitoalexinas. Porém, logo após o contato do tecido com o patógeno, dá-se início à transcrição dos RNAs mensageiros específicos e a sua tradução em enzimas correspondentes (Taiz & Zeiger, 2004). As fitoalexinas agem sobre o fungo por meio da granulação citoplasmática, desorganização dos conteúdos celulares e inativação de enzimas, o que inibe a germinação, a alongação do tubo germinativo e o crescimento micelial (Lo *et al.*, 1996).

Em regiões nas quais não se observa interferência humana, as interações das plantas com outras espécies vegetais, microrganismos, insetos e animais encontram-se em equilíbrio, estando cada espécie em contínua adaptação às condições ambientes para garantia da sua sobrevivência. A capacidade de sintetizar esse arsenal de substâncias químicas contribui para que isto ocorra. Ressalta-se que estas substâncias apresentam uma seletividade natural e baixa toxicidade, pois atacam os agressores, preservando os organismos úteis. Se as plantas, principalmente as não domesticadas, conseguem se manter na natureza, defendendo-se de seus mais diversos predadores, patógenos ou outras espécies vegetais, utilizando-se dos metabólitos secundários, o uso destes compostos no controle fitossanitário pode ser relevante na agricultura.

## Óleos Essenciais

Óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, com baixo peso molecular, geralmente odoríferas e líquidas, constituídos, na maioria das vezes, por moléculas de natureza terpênica. Frequentemente apresentam odor agradável e marcante. Podem ser extraídos por meio de arraste com vapor d'água, hidrodestilação ou expressão de pericarpo de frutos cítricos. Porém, há outros métodos de extração como a “*enfleurage*” ou enfloração, extração por CO<sub>2</sub> supercrítico (utilizado na indústria) e por solventes orgânicos apolares (não apresentam valor comercial). Em temperatura ambiente apresentam aspecto oleoso, tendo como principal característica a volatilidade. Isto os diferencia dos óleos fixos, que são misturas de substâncias lipídicas, geralmente provenientes de sementes (óleo de rícino, manteiga de cacau e óleo de linhaça). Apresentam-se geralmente incolores ou levemente amarelados, com sabor ácido e picante, pouco estáveis em presença de luz, calor e ar, além de serem pouco solúveis em água (Simões & Spitzer, 1999; Saito & Scramin, 2000). Além de terpenos, provenientes da rota do ácido mevalônico ou mevalonato, há alguns óleos essenciais derivados do fenilpropanóides. Os terpenos são constituídos de duas ou mais unidades isoprênicas. Cada molécula de isopreno é formada por cinco átomos de carbono (C5). De acordo com o tamanho da molécula, os terpenóides recebem denominação diferente: compostos formados por duas unidades isoprênicas (C10) são classificados como monoterpenos (mentol, limoneno, linalol, citral); os compostos formados por três unidades isoprênicas (C15) são classificados como sesquiterpenos ( $\alpha$ -selineno e  $\beta$ -cariofileno); compostos

formados por quatro unidades isoprênicas (C<sub>20</sub>) são os diterpenos e os compostos formados por seis unidades isoprênicas (C<sub>30</sub>) são classificados como triterpenos. Os monoterpenos e os sesquiterpenos são os compostos de ocorrência mais frequente na natureza, sendo os primeiros mais facilmente encontrados. São também responsáveis por grande parte das atividades biológicas dos óleos essenciais. As estruturas de alguns constituintes dos óleos essenciais encontram-se na Figura 1.



**Figura 1.** Estruturas de compostos de óleos essenciais.

## Óleos Essenciais na Agricultura

A atividade fungitóxica de óleos essenciais extraídos de plantas medicinais, condimentares e aromáticas por meio de hidrodestilação, como os de *Cymbopogon citratus* (folha), *Ageratum conyzoides* (folha), *Alpinia carinata* (folha), *Boswellia serrata* (talo), *Citrus aurantifolia* (folha), *Citrus reticulata* (casca), *Citrus sinensis* (casca), *Curcuma longa* (rizoma), *Eupatorium cannabinum* (folha), *Hyptis suaveolens* (folha), *Juniperus communis* (folha), *Mentha viridis* (folha), *Pinus* spp. (folha) e *Vetiveria zizanioides* (raiz) sobre *Aspergillus flavus* foi avaliada por Mishra & Dubey (1994). O óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (capim limão) teve atividade positiva sobre o fungo, com a concentração máxima de inibição (MIC) de 3000 ppm. Em testes realizados pelos mesmos autores, para verificação de fitotoxicidade do citral, monoterpene presente em maior concentração no óleo essencial de capim limão, não foi observada interferência sobre a germinação de sementes e o crescimento das plântulas de arroz.

A maior atividade antifúngica do citral foi encontrada em experimento realizado na Índia, quando este é proveniente de óleo essencial extraído de plantas colhidas entre maio e novembro, seguido dos meses de janeiro e dezembro, com eficácia intermediária. A extração de óleo essencial de capim limão colhido em fevereiro, março e abril não tem sido indicada, pois, mesmo em concentrações altas (hipertóxicas), não apresentou atividade positiva. Em teste realizado para avaliar a atividade fungitóxica do citral sobre *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Aspergillus* e *Botrytis*, nas concentrações de 500 ppm (hipotóxica), de 1000 ppm (tóxica) e de 1500 ppm (hipertóxica), houve total inibição de crescimento fúngico somente com a concentração hipertóxica (Mishra & Dubey, 1994).

De acordo com Bankole & Joda (2004), o óleo essencial do capim limão reduziu a deterioração de sementes de melão, previamente inoculadas com *Penicillium citrinum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus tamarii*, reduzindo, parcialmente, a produção de aflatoxina em sementes descascadas e inoculadas com *Aspergillus flavus*, nas concentrações de 0,1 e 0,25% (v/m), e completamente nas concentrações de 0,5 e 1% (v/m).

Em experimentos realizados por Adegoke & Odesola (1996), sementes de feijão e de milho tratadas com óleo essencial de capim limão e armazenadas por dez dias, não apresentaram deterioração física, alteração no odor e na coloração, e não houve crescimento de *Aspergillus flavus*. Esses autores verificaram que o potencial fungicida do citral permaneceu inalterado por até 210 dias do início do armazenamento das sementes tratadas, quando ocorreu um declínio da sua atividade. A atividade se manteve inalterado mesmo quando o óleo essencial foi submetido a temperaturas entre 5 °C e 100 °C, o que demonstra sua natureza termo-estável, indicando a possibilidade deste óleo ser utilizado como inibidor de fungos de armazenamento.

Belém *et al.* (1996) avaliaram a atividade antifúngica de óleos essenciais de *Schinus molle* (aroeira), *Cymbopogon citratus* (capim limão), *Anacardium occidentale* (cajuero) e *Peumus boldus* (boldo) sobre o crescimento micelial de *Aspergillus* e *Penicillium*, isolados de sementes de *Vigna unguiculata*, *Zea mays* e *Arachis hypogaeae* e verificaram que somente o óleo essencial do capim limão inibiu o crescimento dos fungos.

A atividade antifúngica de óleos essenciais extraídos de 22 plantas, pela técnica da hidrodestilação, sobre *Rhizoctonia solani* foi testada por Kishore *et al.* (1983). Os autores observaram que o óleo essencial de *Lippia alba* (cidreira brasileira ou falsa cidreira) inibiu o crescimento micelial do fungo. Esse óleo também inibiu o crescimento de *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans*, *Chaetomium globosum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum dematium*, *Curvularia lunata*, *Penicillium italicum* e *Rhizopus arrhizus*. Dando continuidade ao trabalho, Kishore *et al.* (1989) avaliaram a ação do óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* no tratamento de sementes de *Phaseolus aureus*, para o controle do tombamento de mudas causado por *Rhizoctonia solani*. O óleo essencial não interferiu na germinação das sementes e no crescimento das plântulas de feijão.

Zanandrea *et al.* (2004) verificaram que o óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) inibiu o crescimento micelial de *Alternaria* sp., *Bipolaris oryzae*, *Curvularia* sp., *Gerlachia oryzae*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum* isolados de arroz. Esses fungos foram sensíveis ao carvacrol, composto majoritário do óleo essencial

do orégano, destacando-se a redução do crescimento micelial de *Bipolaris oryzae*, mesmo na concentração mais baixa do óleo (1:32).

Salgado *et al.* (2003) avaliaram a atividade fungitóxica do óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus camaldulensis* e *Eucalyptus urophylla* nas concentrações de 5, 50 e 500 mg/kg, sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana*. Os autores observaram redução no crescimento micelial dos fungos pelos três óleos. Segundo os autores, houve mudança na coloração do micélio de *Fusarium oxysporum*, sugerindo que pode ter havido oxidação, devido à presença de carbonilas, grupos alcoólicos e duplas ligações nas substâncias que compõem os óleos essenciais. A maior ação fungitóxica foi do óleo essencial de *Eucalyptus urophylla*. Esta atividade foi atribuída ao sesquiterpeno globulol, composto majoritário deste óleo essencial, não detectado nos demais. Estes resultados são semelhantes aos obtidos por Aleu *et al.* (2001) que verificaram inibição total do crescimento de *Botrytis cinerea*, nas concentrações 100 e 200 mg/kg do globulol.

O óleo essencial de *Salvia officinalis* e de alguns de seus componentes (1,8 cineol, cânfora  $\alpha$  e  $\beta$ -tujona) foram comparados com benomyl e iprodione quanto à atividade antifúngica sobre *Botrytis cinerea* e verificou-se atividade para o óleo essencial e cânfora superiores aos padrões comerciais (Carta *et al.*, 1996).

Silva & Bastos (2007) avaliaram a atividade fungitóxica do óleo essencial de dez espécies de *Piper*, coletadas na Amazônia, nas concentrações 0,1; 0,25; 0,5; 0,75 e 1  $\mu$ l/ml, sobre o crescimento micelial e a germinação de basidiósporos de *Moniliophthora perniciosa* (sin. *Crinipellis perniciosa*), agente causador da vassoura-de-bruxa e sobre o crescimento micelial de *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*, causadores de podridão parda em frutos de cacaueteiro. A partir da concentração de 0,75  $\mu$ l/ml do óleo de *Piper callosum* e na concentração de 1  $\mu$ l/ml do óleo de *Piper marginatum* var. *anisatum* a inibição do crescimento micelial foi de 100%. O óleo essencial de *Piper dilatatum* foi o mais eficiente em inibir a germinação de basidiósporos de *Crinipellis perniciosa*, seguido pelos de *Piper callosum* e *Piper marginatum* var. *anisatum*. O óleo essencial de *Piper callosum* tem como composto majoritário o safrol (64%), além do  $\alpha$ -pineno (6,9%) e metil-eugenol em menor concentração (2,7%). O óleo de *Piper aduncum* é rico em dilapiol, com ação antifúngica comprovada sobre *Crinipellis perniciosa*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. A atividade antifúngica destes óleos pode estar associada à presença de um desses ou da ação sinérgica dos compostos.

A atividade *in vitro* dos óleos essenciais de *Melaleuca alternifolia* e de *Monarda citriodora*, sobre *Alternaria brassicola*, *Alternaria solani*, *Alternaria flavus*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium solani*, *Mycocentrospora acerina*, *Rhizoctonia solani*, *Rhizopus sexualis*, *Rhizopus stolonifer*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium cepivorum*, *Serpula lacrymans* e *Pythium ultimum* foi avaliada por Bishop & Thornton (1997). Os dois óleos proporcionaram alto nível de inibição de crescimento micelial, sendo que o de *Melaleuca* foi mais ativo. O constituinte majoritário do óleo essencial de melaleuca é o terpinen-4-ol (37,4%), seguido de  $\gamma$ -terpineno (19,4%) e  $\alpha$ -terpineno (9%). O óleo essencial de *Monarda citriodora* apresentou como marcador o timol (56,9%), seguido de  $\rho$ -cimeno (13%) e  $\gamma$ -terpineno (10%). Na continuidade dos estudos, Bishop e Reagan (1998) verificaram que o óleo essencial de melaleuca, nas concentrações de 1,6 e 3,2%, reduziu o crescimento de *Botrytis cinerea* em folhas de repolho. Na maior concentração a inibição foi semelhante ao dos fungicidas benomyl, carbendazin, metalaxyl e iprodione.

Medice *et al.* (2007) avaliaram o potencial de óleos essenciais de *Corymbia citriodora* (eucalipto citriodora) a 1%, *Cymbopogon nardus* (citronela) a 0,5% e *Thymus vulgaris* (tomilho) a 0,3% na inibição da germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi* e na redução da severidade dos sintomas da ferrugem asiática, em casa-de-vegetação. Os autores constataram que os óleos inibiram em 100% a germinação dos urediniósporos. Todos os óleos retardaram a evolução da doença quando comparados com a testemunha, observando-se redução na severidade em média de 34,6 a 60,7% na cultivar MG/BR46 (Conquista) e de 45,7 a 62,3% na cultivar Suprema. As observações em microscopia eletrônica de varredura mostraram que houve murcha dos urediniósporos, quando tratados com o óleo essencial de tomilho. Para os demais tratamentos, foi observada redução no tamanho das urédias. Os resultados indicam que esses óleos essenciais têm potencial para o controle da doença.

A eficiência do óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* na inibição do crescimento micelial de *Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora* sp., *Rhizoctonia solani*, *Alternaria alternata* e *Colletotrichum sublineolum* foi verificada por Bonaldo *et al.* (2007). O óleo inibiu também a germinação e a formação de apressórios em *Colletotrichum sublineolum*, porém, não foi observada a indução de síntese de fitoalexinas em mesocótilos de soja e sorgo. Também Fiori *et al.* (2000) observaram inibição no crescimento micelial de *Didymella bryoniae* pelos óleos de *Eucalyptus citriodora*, *Cymbopogon citratus* e *Ageratum conizoides*.

O potencial do óleo essencial de pimenta-de-macaco (*Piper aduncum*) no tratamento de sementes de feijão caupi (*Vigna unguiculata*), pela técnica da imersão, foi estudado por Lobato *et al.* (2007), que verificaram redução da incidência de *Aspergillus flavus*, *Penicillium* spp., *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani* e *Fusarium* spp. Não houve interferência na germinação das sementes, mesmo na maior concentração (1%).

Gadelha *et al.* (2003) estudaram a ação de dois produtos obtidos da mistura de óleos essenciais de *Lippia sidoides*, *Mentha arvensis*, *Ocimum gratissimum*, *Eucalyptus terenticornis* e óleo fixo de soja, os quais foram aplicados para o tratamento pós-colheita do pedúnculo do melão "Orange flesh". O primeiro produto foi obtido da mistura de óleos essenciais de *Lippia sidoides*, *Mentha arvensis* e *Ocimum gratissimum* e o óleo fixo da soja. O segundo produto foi composto pelos óleos essenciais de *Lippia sidoides*, *Mentha arvensis*, *Eucalyptus terenticornis* e o óleo fixo da soja. Os produtos foram emulsionados e aplicados aos frutos nas concentrações de 0; 10; 20; 30 e 40 ml/l de suspensão. A inoculação de *Fusarium* sp. foi efetuada 16 h antes ou após a aplicação dos produtos, para que se avaliasse a ação curativa ou preventiva dos mesmos. O primeiro produto foi mais eficiente em menor concentração que o segundo, para o tratamento preventivo. O segundo produto reduziu a incidência do fungo proporcionalmente ao aumento da concentração, o que indica ser mais eficiente para tratamento curativo em concentração igual ou superior a 40 ml/l. Os autores recomendam o tratamento pós-colheita de pedúnculos de melão com o primeiro produto preventivamente na concentração 20 ml/l e curativamente, na concentração 40 ml/l. A atividade do primeiro produto pode ser devido à presença do óleo essencial da *Mentha arvensis* na formulação, que tem em sua composição alta concentração de mentol (aproximadamente 70%) e ausência de cineol, composto majoritário do óleo essencial do eucalipto, presente apenas no segundo produto.



Faria *et al.* (2006) identificaram atividade positiva do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*, sendo o eugenol o composto ativo, sobre *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Alternaria* spp. (isolados de cenoura e tomate), *Rhizoctonia* sp. e *Botryosphaeria rhodina*, por meio do método de difusão em ágar.

Avaliando o efeito do óleo essencial de *Lippia rugosa*, na concentração de 1000 mg/l, Tatsadjieu *et al.* (2009) verificaram inibição total do crescimento micelial de *Aspergillus flavus*. Os autores também verificaram a redução total na síntese de aflatoxina B<sub>1</sub>, na concentração 1000 mg/l, a partir do segundo dia de avaliação. A sua composição química foi determinada por cromatografia gasosa acoplada à espectrômetro de massas, sendo o geraniol, neral e geranial os componentes majoritários, nas concentrações de 51,5%, 18,6% e 10,4%, respectivamente. O mecanismo de ação do óleo essencial de *Lippia rugosa* consiste na inibição da atividade da enzima H<sup>+</sup>-ATPase, responsável pela manutenção da homeostase celular e estabilidade osmótica, por meio da regulação da concentração iônica no interior da célula.

A utilização de óleos essenciais de espécies aromáticas e medicinais, isolados ou em combinação com outros métodos, poderá ter um importante papel no controle de fitopatógenos, contribuindo para a redução do uso de fungicidas e, conseqüentemente, um menor impacto ao ambiente (Mota & Pessoa, 2003). Esses produtos podem ter ação fungitóxica direta, pela inibição da germinação de esporos e do crescimento micelial, ou indireta, pela indução de produção de fitoalexinas ou outros compostos de defesa da planta. Entretanto, não se deve deixar de considerar que estes princípios ativos, mesmo sendo naturais, não deixam de ser substâncias químicas e devem ser usados com critério.

## **Influência dos Fatores Abióticos na Composição Química dos Óleos Essenciais**

A composição química dos óleos essenciais é determinada por fatores genéticos, porém, outros fatores podem acarretar alterações significativas na produção dos metabólitos secundários. Os estímulos decorrentes do ambiente no qual a planta se encontra podem redirecionar a rota metabólica, ocasionando a síntese de diferentes compostos. Dentre estes fatores, destacam-se as interações planta-microrganismos, planta-insetos e planta-planta; idade e estágio de desenvolvimento, luminosidade, temperatura, água, nutrição, época e horário de coleta. Temperatura e luminosidade apresentam papel relevante na fotossíntese, pois a interação destes fatores garante um ambiente ideal para o processo fisiológico (Souza *et al.*, 2008).

O teor de óleos essenciais, na maioria das vezes, aumenta quando as plantas encontram-se em ambientes com temperatura elevada, porém, em dias muito quentes, pode-se observar perda excessiva destes óleos pela transpiração ou outras rotas metabólicas.

Avaliando os efeitos da evolução sazonal na composição do óleo essencial de *Virola surinamensis*, Lopes *et al.* (1997) concluíram que não houve variação no rendimento do óleo essencial nas diferentes estações do ano e horários de coleta, porém, a proporção relativa dos seus componentes alterou significativamente. Por outro lado, Chaves (2002) avaliou o efeito da época de corte (outono, inverno, primavera e verão) na composição do óleo essencial de folhas e inflorescências de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*) e verificou que houve variação na composição do óleo em função da época. Nas folhas o componente majoritário foi o eugenol no verão, e o  $\beta$ -selineno e o trans-cariofileno no inverno. Nas inflorescências os níveis de eugenol foram baixíssimos e o 1,8-cineol foi o principal composto, sendo que no outono o seu teor foi reduzido.

Em ensaios realizados com *Melissa officinalis* em dois horários de coleta, Blank *et al.* (2005) concluíram que houve inversão no percentual de compostos majoritários do óleo essencial, obtendo-se 49,0% de neral e 34,4% de geranial às 9 h, e 34,1% e 50,8% às 15 h para neral e geranial, respectivamente. Esta alteração na composição pode ocasionar respostas diferenciadas em ensaios com fitopatógenos, pois, o composto responsável pela atividade biológica pode ter sua concentração alterada.

Bezerra *et al.* (2008) observaram alterações nos teores de acetato de trans-pinocarveila, acetato de mirtenila e  $\beta$ -pineno, componentes majoritários do óleo essencial de macela, quando extraídos de capítulos florais provenientes de diferentes épocas de colheita. Moraes *et al.* (2002) verificaram como compostos majoritários do óleo essencial extraído de folhas de *Ocimum selloi* o metilchavicol (24,1% e 29,9%), cis-anetol, (3,9% e 2,9%) e trans-anetol, com proporção relativa de 45,4% e 58,6% respectivamente, em amostras de plantas cultivadas em Botucatu-SP, e colhidas em junho de 2000 e janeiro de 2001.

Outro fator relevante na alteração do rendimento e composição química dos óleos essenciais é a precipitação. Chuvas intensas e constantes podem resultar na perda de substâncias hidrossolúveis presentes, principalmente, nas folhas e flores. Recomenda-se aguardar aproximadamente três dias após o cessar das chuvas para realizar a coleta, para que os teores de óleo essencial possam voltar ao normal. Por outro lado, estudos realizados com o intuito de avaliar a influência do estresse hídrico sobre a composição do óleo essencial de *Ocimum basilicum* demonstraram que, sob condições de estresse, houve redução do rendimento de massa seca total, ocorrendo, porém, um rendimento de óleo duas vezes maior. Os seus componentes tiveram alterações significativas, havendo redução no percentual de sesquiterpenos e aumento no percentual de linalol e metilchavicol (Simon *et al.*, 1992). Em ensaios em casa-de-vegetação com diferentes acessos de *Polygonum punctatum*, Lopes *et al.* (2001) avaliaram a influência de regimes hídricos (ambiente úmido, moderadamente úmido e seco) na produção de óleo essencial. Os autores observaram maior rendimento no ambiente seco. Este resultado demonstra que o aumento na síntese do óleo essencial pode funcionar como resposta adaptativa ao estresse hídrico, relacionando-se alguma resposta fisiológica às variações ambientais.

A ocorrência de variações na composição do óleo essencial de *Ocimum basilicum* (manjerição) e *Mentha piperita* (menta) em função de níveis de NPK utilizados no cultivo foi verificada por Hornok (1983). O aumento dos níveis

de nitrogênio reduziu o percentual de mentol e linalol. Houve incremento nos teores de mentol (em menta), linalol e estragol (no manjeriço), à medida que os níveis de potássio foram elevados. De acordo com Paulus *et al.* (2008), plantas de menta japonesa (*Mentha arvensis*) em cultivo hidropônico, submetidas a diversas concentrações da solução nutritiva, produziram diferentes teores de mentol e mentona, compostos majoritários do óleo essencial. Isto demonstra que estes compostos são diretamente influenciados pela nutrição das plantas.

A alteração dos compostos majoritários nos óleos essenciais, seja por fatores bióticos ou abióticos, pode influenciar diretamente nos resultados de testes sobre fitopatógenos. Observa-se divergência entre resultados provenientes de ensaios realizados com as mesmas espécies vegetais e patógenos. Vale ressaltar que os produtos químicos aos quais foram submetidos os diferentes isolados testados, também podem gerar diferenças nas respostas. Para minimizar esses efeitos e evitar que dados não conclusivos sejam publicados, o ideal é que, juntamente com os ensaios para verificação da atividade biológica, seja realizada a análise química dos óleos essenciais avaliados, para obter a sua caracterização fitoquímica. Assim, pode-se conhecer qual o composto majoritário do óleo essencial, bem como a composição química como um todo, responsável por conferir a sua ação sobre determinado fitopatógeno. Estes resultados mais concretos evitam que plantas com potencial de uso no controle de doenças de culturas relevantes possam ser descartadas ou que plantas com pouco ou nenhum potencial, virem alvo de estudos desnecessariamente.

A associação dos ensaios biológicos com a caracterização fitoquímica de óleos essenciais pode ser útil para as indústrias no desenvolvimento de futuros produtos biocompatíveis, seja como produto/componente *in natura* ou como modelo para síntese ou semi-síntese química de produtos com as características necessárias, ou seja, baixo custo, facilidade de aplicação, pequeno espectro de ação, baixa persistência residual, pouca ou nenhuma toxicidade ao homem, aos animais e ao ambiente.

## Considerações Finais

O controle de doenças de plantas, baseados na utilização de óleos essenciais e/ou na atividade biológica definida, com baixa ou nenhuma toxidez, teria grande utilidade prática. Estas substâncias naturais provenientes de plantas medicinais, aromáticas e condimentares, muitas vezes de fácil obtenção a baixo custo e que não tenham toxidez residual, podem ser uma alternativa para o controle de doenças de plantas, pois, na maioria são sistêmicos, de fácil degradação e pouco ou não fitotóxicos. Um aspecto relevante é que os óleos essenciais são produzidos por um organismo vivo, sujeito a várias alterações. Deve se observar, sempre que possível, o histórico da planta (como o local, horário e época de coleta, temperatura, pluviosidade e estágio de desenvolvimento, dentre outros), variedade ou quimiotipo da espécie em estudo e verificar sua composição química, antes de afirmar se determinada planta apresenta ou não atividade biológica sobre algum patógeno.

O composto majoritário (marcador) do óleo essencial deve ser sempre identificado, para que se conheça com qual composição obteve-se determinado resultado, para não inviabilizar a reprodutibilidade. É preciso ter cautela nas afirmações e usar sempre o princípio da repetição, para que se confirme o resultado antes de publicá-lo. Existem vários métodos de pesquisa descritos na literatura, porém, há a necessidade de padronização, para que a comparação entre os resultados seja possível.

A pesquisa na área de plantas medicinais como defensivos naturais é promissora, com possibilidade de novas e relevantes descobertas, porém, deve ser alicerçada em estudos interdisciplinares, para que se obtenham resultados conclusivos. Há ainda a necessidade de implantação de ensaios nas condições ecológicas de uso do produto, que ainda são em número reduzido quando comparado com a quantidade de ensaios *in vitro* publicados.

Os vegetais são uma fonte inesgotável de moléculas, muitas desconhecidas, que podem servir de modelo para síntese química, gerando produtos de baixo custo, eficazes, ambientalmente seguros, padronizados, registrados, com controle de qualidade visando a reprodutibilidade e constância de componentes químicos, e, principalmente, que atendam às necessidades dos produtores.

## Referências

- Adegoke, G. O. & Odesola, B. A. Storage of maize and cowpea and inhibition of microbial agents of biodeterioration using the powder and essential oil of lemon grass (*Cymbopogon citratus*). *International Biodeterioration & Biodegradation* 37: 81-84. 1996
- Aleu, J.; Hanson, J.R.; Gálan, R.H. & Collado, I.G. Biotransformation of the fungistatic sesquiterpenoids patchoulol, ginsenosol, cedrol and globulol by *Botrytis cinerea*. *Journal of Molecular Catalysis. B, Enzymatic* 11: 329-334. 2001.
- Bankole, S.A. & Joda, A.O. Effect of lemon grass (*Cymbopogon citratus* Stapf.) powder and essential oil on mould deterioration and aflatoxin contamination of melon seeds (*Colocynthis citrullus* L.). *African Journal of Biotechnology* 3: 52-59. 2004.
- Belém, L. F.; Araújo, E. & Lima, E.O. Estudo da Atividade *in vitro* de Produtos Vegetais contra Fungos de Armazenamento Isolados de Sementes de *Vigna unguiculata*, *Zea mays* e *Arachis hypogaea*. Resumos, XIV. Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Florianópolis SC . 1996. Resumo A - 007.
- Bezerra, A.M.E.; Medeiros Filho, S.; Oliveira, L.D.M. & Silveira, E.R. Produção e composição química da macela em função da época de colheita. *Horticultura Brasileira* 26: 026-029. 2008.
- Bishop, C.D. & Reagan, J. Control of the storage pathogen *Botrytis cinerea* on dutch white cabbage (*Brassica oleraceae* var. *Capitata*) by the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Essential Oil Research* 10: 57-60. 1998.
- Bishop, C.D. & Thornton, I.B. Evaluation of the antifungal activity on the essential oils of *Monarda citriodora* var. *citriodora* and *Melaleuca alternifolia* on post harvest pathogens. *Journal of Essential Oil Research* 9: 77-82. 1997.
- Blank, A. F. ; Fontes, S. M. ; Carvalho Filho, J. L. S. ; Alves, P. B. ; Silva-Mann, R. ; Mendonça, M. C. & Arrigoni-Blank, M. F. Influência do horário de colheita e secagem de folhas no óleo essencial de melissa (*Melissa officinalis* L.) cultivada em dois ambientes. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais* 8: 73-78. 2005.
- Bonaldo, S.M.; Schwan-Strada, K.R.F.; Stangarlin, J.R.; Cruz, M.E.S. & Fiori-Tutida, A.C.G. Contribuição ao estudo das atividades antifúngica e elicitoras de fitoalexinas em sorgo e soja por eucalipto (*Eucalyptus citriodora*). *Summa Phytopathologica* 33: 383-387. 2007.

- Boyce, A.M. Historical aspects of insecticide development. In: Metcalf, R. L. & Mckelvey Jr., J.J. The future for insecticides: needs and prospects. Proceedings of a Rockefeller Foundation Conference. New York. Wiley Interscience. 1974. pp. 469-488.
- Carta, C.; Moretti, M.D.L. & Peana, A.T. Activity of the oil of *Salvia officinalis* L. against *Botrytis cinerea*. Journal of Essential Oil Research 8: 399-404. 1996.
- Chaves, F. C. M. Produção de biomassa, rendimento e composição de óleo essencial de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.) em função de adubação orgânica e épocas de corte. Tese de Doutorado. Botucatu, SP. FCA/UNESP. 2002.
- Decker, S. Inseticidas Vegetais. São Paulo. Secretaria de Agricultura, Indústria e Comércio do Estado de São Paulo. 1942. pp.1-18. (Boletim da Agricultura, n. único).
- Di Stasi, L.C. Química de produtos naturais: principais constituintes ativos. In: Di Stasi, L.C. Plantas medicinais: arte e ciência – um guia interdisciplinar. São Paulo. Ed. UNESP. 1996. pp. 199-215.
- Faria, T.J.; Ferreira, R.S.; Yassumoto, L.; Souza, J.R.P.; Ishikawa, N.K. & Barbosa, A.M. Antifungal activity of essential oil isolated from *Ocimum gratissimum* L. (eugenol chemotype) against Phytopathogenic fungi. Brazilian Archives of Biology and Tecnology 49: 867-871. 2006.
- Fiori, A.C.G.; Schwan-Estrada, K.R.F.; Stangarlin, J.R.; Vida, J.B.; Scapin, C.A.; Cruz, M.E.S. & Pascholati, S.F. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. Journal of Phytopathology 148: 483-487. 2000.
- Gadelha, J.C.; Innecco, R.; Alcanfor, D.C.; Mattos, S.H.; Medeiros-Filho, S. & Vieira, A.V. Defensivos naturais no tratamento pós-colheita de pedúnculos do melão. Revista Ciência Agronômica 34: 5-10. 2003.
- Gros, E.G.; Pomilio, A.B.; Seldes, A.M. & Burton, G. Introducció al Estudio de los Productos Naturales. Washington. The General Secretariat of the Organization of the American States. 1985.
- Hornok, L. Influence of nutrition on the yield and content of active compounds in some essential oil plants. Acta Horticulturae 132: 239-247. 1983.
- Kishore, N.; Dubey, N. K.; Srivasta, O. P. & Sing, S. K. Volatile fungitoxicity in some higher plants as evaluated against *Rhizoctonia solani* and some other fungi. Indian Phytopathology 36: 724-726. 1983.
- Kishore, M.; Dixit, S. N. & Dubey, N. K. Fungitoxic studies with *Chenopodium ambrosioides* for control of dumping – off in *Phaseolus aureus* (MONG) caused by *Rhizoctonia solani*. Tropical Science 29: 171-176. 1989.
- Lo, C.L.; Weiergang, I.; Bonham, C.; Hipskind, J.; Wood, K. & Nicholson, R.L. Phytoalexin accumulation in sorghum: identification of methyl ether of luteolinidin. Physiological and Molecular Plant Pathology 49: 21-31. 1996.
- Lobato, A.K.S.; Santos, D.G.C.; Oliveira, F.C.; Gouvea, D.D.S.; Torres, G.I.O.S.; Lima-Junior, J.A.; Oliveira-Neto, C.F. & Silva, M.H.L. Ação do óleo essencial de *Piper aduncum* L. utilizado como fungicida natural no tratamento de sementes de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Revista Brasileira de Biociências 5: 915-917. 2007.
- Lopes, N.P.; Kato, M. J.; Andrade, E. H.; Maia, J. G. S. & Yoshida, M. Y. Circadian and seasonal variation in the essential oil from *Virola surinamensis* leaves. Phytochemistry 46: 689-693. 1997.
- Lopes, R. C.; Casali, V. W. D.; Barbosa, L. C. A. & Cecon, P. R. Influência de três regimes hídricos na produção de óleo essencial em sete acessos de *Polygonum punctatum* Ell. Revista Brasileira de Plantas Medicinais 3: 7-10. 2001.
- Mann, J. Secondary Metabolism. 2<sup>nd</sup> ed. Oxford. Oxford Science Pubs. 1987.
- Mariconi, F.A.M. Inseticidas e seu Emprego no Combate às Pragas. v. 1. Defensivos. 5<sup>a</sup>. Ed. São Paulo. Nobel. 1981.
- Medice, R.; Alves, E.; Assis, R.T.; Magno-Junior, R.G. & Lopes, H.A.G.L. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. Ciência e Agrotecnologia 31: 83-90. 2007.
- Mishra, A.K. & Dubey, N.K. Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. Applied and Environmental Microbiology 60: 1101-1105. 1994.
- Moraes, L. A. S.; Facanali, R.; Marques, M. O. M.; Ming, L.C. & Meireles, M. A. A. Phytochemical characterization of essential oil from *Ocimum selloi*. Anais da Academia Brasileira de Ciências 74:183-186. 2002.

- Mota, J.C.O. & Pessoa, M.N.G. Utilização de óleo essencial e extrato foliar de *Lippia sidoides* Cham. no controle de fungos de sementes de graviola. In: Resumos Expandidos, 36. Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Manejo Integrado de Doenças de Plantas, Uberlândia, MG. 2003. CD-ROM.
- Paulus, D.; Medeiros, S.L.P.; Santos, O.S. & Paulus, E. Solução nutritiva para produção de menta em hidroponia. Horticultura Brasileira 26: 61-67. 2008.
- Rodrigues, E.; Schwan-Estrada, K.R.F.; Fiori-Tutida, A.C.G.; Stangarlin, J.R. & Cruz, M.E.S. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de alface em sistemas de cultivo orgânico contra *Sclerotinia sclerotiorum* pelo extrato de gengibre. Summa Phytopathologica 33: 124-128. 2007.
- Saito, M.L. & Lucchini, F. Substâncias Obtidas de Plantas e a Procura por Praguicidas Eficientes e Seguros ao Meio Ambiente. Jaguariúna. Embrapa/CNPMA. 1998.
- Saito, M.L. & Scramin, S. Plantas Aromáticas e seu Uso na Agricultura. Jaguariúna. Embrapa Meio Ambiente. 2000.
- Salgado, A.P.S.P.; Cardoso, M.G.; Souza, P.E.; Souza, J.A.; Abreu, C.M.P. & Pinto, J.E.B.P. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana*. Ciência e Agrotecnologia 27: 249-254. 2003.
- Santos, R.I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre. Ed. da UFRGS; Florianópolis. Ed. Ed. da UFSC. 1999. pp. 323-354.
- Silva, D.M.H. & Bastos, C.N. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de *Piper* sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. Fitopatologia Brasileira 32: 143-145. 2007.
- Simões, C. M. O. & Spitzer, V. Óleos voláteis. In: Simões, C. M. O. *et al.* Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre. Ed. da UFRGS; Florianópolis. Ed. Ed. da UFSC. 1999. pp. 387-415.
- Simon, J. E.; Reiss-Bubenheim, D.; Jojy, R. J. *et al.* Water stress-induced alterations in essential oil content and composition of sweet basil. Journal of Essential Oil Research 4: 71-75. 1992.
- Souza, J.R.P.; Moraes, H.; Caramori, P.H.; Jojannsson, L.A.P.S. & Miranda, L.V. Desenvolvimento da espinheira-santa sob diferentes intensidades luminosas e níveis de poda. Horticultura Brasileira 26: 40-44. 2008.
- Taiz, L. & Zeiger, E. Fisiologia Vegetal. 3ª. Ed. Porto Alegre. Ed. Artmed. 2004.
- Tatsadjieu, N.L.; Jazet Dongmo, P.M.; Ngassoum, M.B.; Etoa, F-X. & Mbofung, C.M.F. Investigations on the essential oil of *Lippia rugosa* from Cameroon for its potential use as antifungal agent against *Aspergillus flavus* Link ex. Fries Food Control 20: 161-166. 2009.
- Vieira, P.C. & Fernandes, J.B. Plantas inseticidas. In: Simões, C. M. O. *et al.* Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre. Ed. da UFRGS; Florianópolis. Ed. Ed. da UFSC. 1999. pp. 739-754.
- Zanandrea, I.; Juliano, D.S.; Andréa, B.M.; Juliane, L. & Veridiana, K.B. Atividade do óleo essencial de orégano contra fungos patogênicos do arroz: crescimento micelial em placas. Revista Brasileira de Farmacognosia 14: 14-16. 2004.