

# AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FUNGITÓXICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE FOLHAS DE *Eucalyptus* SOBRE *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* E *Bipolaris sorokiniana*<sup>1</sup>

ANA PAULA SOARES P. SALGADO<sup>2</sup>  
MARIA DAS GRAÇAS CARDOSO<sup>3</sup>  
PAULO ESTEVÃO DE SOUZA<sup>5</sup>  
JOSEFINA APARECIDA DE SOUZA<sup>4</sup>  
CELESTE MARIA P. ABREU<sup>3</sup>  
JOSÉ EDUARDO B. P. PINTO<sup>5</sup>

**RESUMO** – A maioria das plantas são resistentes aos diferentes patógenos, e essa resistência pode estar relacionada à existência de compostos fungistáticos naturalmente produzidos. Com o presente trabalho, avaliou-se a atividade fungitóxica de óleos essenciais de eucaliptos. Os óleos foram obtidos de folhas dos eucaliptos mediante arraste a vapor de água, utilizando o aparelho de Clevenger modificado. Nos ensaios biológicos, foram empregados os fitopatógenos *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana*. O crescimento dos mi-

croorganismos na presença de diferentes concentrações de óleo (5, 50 e 500 mg/Kg), usando os meios de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar) e PCA (Batata-Cenoura-Ágar), foi avaliado. Nas concentrações de 500 mg/Kg dos óleos, foram observadas inibições significativas no crescimento micelial das espécies fúngicas, após período de 7 dias. No entanto, o óleo essencial de *Eucalyptus urophylla* foi o que apresentou maior ação fungitóxica, que foi atribuída à presença do composto denominado globulol, ausente no *E.camaldulensis* e no *E. citriodora*.

**TERMOS PARA INDEXAÇÃO:** *Eucalyptus*, óleo essencial, atividade fungitóxica.

## FUNGITOXIC ACTIVITY EVALUATION OF ESSENTIAL LEAF OILS OF *Eucalyptus* ON *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* AND *Bipolaris sorokiniana*

**ABSTRACT** – Most plants are resistant to different pathogens and this resistance may be related to the existence of naturally produced fungistatic components. The present work evaluated the fungitoxic activity of essential oils from three eucalyptus species. The essential oils were obtained from eucalyptus leaves by steam distillation using a modified Clevenger apparatus. The phytopatogens *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* and *Bipolaris sorokiniana* were employed in the biological tests. The growth of fungi in the presence of different

concentrations of oil (5, 50, and 500 mg/kg), using BDA (Potato-Dextrose-agar) and PCA (Potato-Carrot-agar) culture media were evaluated. Significant inhibition of the micelial growth of the fungal species was observed at the concentration of 500 mg/kg of oil after a period of seven days. The essential oil of *Eucalyptus urophylla* showed the greatest fungitoxic activity. This fact was attributed to the presence of the compound globulol, which was absent in the oils obtained from *E. camaldulensis* and *E. citriodora*.

**INDEX TERMS:** *Eucalyptus*, essential oil, fungitoxic activity.

1. Parte da Dissertação de Mestrado em Agronomia – Agroquímica/Agrobioquímica, apresentada pelo primeiro autor ao Departamento de Química da UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS/UFLA – Caixa Postal 37 – 37200-000 – Lavras, MG.

2. Engenheiro Agrônomo - Departamento de Química da UFLA.

3. Professoras do Departamento de Química da UFLA. Bolsista do CNPq.

4. Pesquisadora do Departamento de Química da UFLA.

5. Professores dos Departamentos de Fitopatologia e Agricultura da UFLA.

## INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais de eucalipto são compostos formados por uma complexa mistura de componentes orgânicos voláteis, freqüentemente envolvendo de 50 a 100 ou até mais componentes isolados, e apresentando grupos químicos como: hidrocarbonetos, alcoóis, aldeídos, cetonas, ácidos e ésteres. Em geral, os óleos essenciais são constituídos de terpenos mais complexos, como o citronelal e o cineol; outros constituintes da essência incluídos na porcentagem de 20 a 30 % são:  $\alpha$  - pineno, piperitona, felandreno, butiraldeído, hexanal (Charles & Simon, 1990).

Nos eucaliptos, os óleos etéreos encontram-se basicamente em suas folhas. São produzidos e armazenados por glândulas e estão distribuídos de forma abundante no parênquima da folha da maioria das espécies de eucaliptos. Existem diversas teorias sobre a função dos óleos essenciais dos eucaliptos, mas poucos fatos caracterizam seu papel ecológico e fisiológico. Eles já foram considerados como repelentes de insetos que se alimentam de suas folhas, inibidores da germinação e de crescimento de outras plantas, controladores da atividade microbiológica de alguns fungos e bactérias, entre outros (Boland et al., 1991; Oyedeji et al., 1999; Chaibi et al., 1997).

A investigação dos óleos essenciais levou ao descobrimento de hidrocarbonetos isoméricos denominados terpenos, porém, os óleos essenciais são misturas muito complexas e muito variáveis em seus constituintes, sendo encontrados somente os terpenos mais voláteis, dentre os quais destacam-se aqueles de baixo peso molecular, como os monoterpenos com 10 carbonos e sesquiterpenos com 15 carbonos (Simões et al., 1999; Doran & Brophy, 1990).

A partir da última década, a conscientização química sobre o uso indiscriminado e incorreto de defensivos agrícolas no ambiente rural e urbano, causando prejuízos aos ecossistemas e ao homem, tem motivado o desenvolvimento de métodos e produtos alternativos no controle de doenças de plantas (Fernandes, 2000). Assim sendo, é de fundamental importância a pesquisa constante e a procura de novos grupos químicos com efeitos fungicidas. Na natureza, a maioria das plantas são resistentes aos diferentes patógenos, e essa resistência pode estar relacionada à existência de fungicidas naturalmente produzidos. (Lemos et al., 1990). Portanto, espera-se que a descoberta de substâncias naturais com efeito fungitóxico possa contribuir no controle das doenças das plantas. Dentro desse contexto, objetivou-se com o presente trabalho avaliar a atividade fungitóxica dos

óleos essenciais de três diferentes espécies de *Eucalyptus*: *E. camaldulensis* Dehnh., *E. citriodora* Hook. e *E. urophylla* Blake., extraídos de suas folhas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Seleção das plantas e extração de óleos essenciais

As folhas adultas da planta foram coletadas em março de 2000, no período da manhã, em um minihorto florestal de eucalipto da Universidade Federal de Lavras-UFLA, Lavras-MG.

As folhas foram picadas, separadas em pacotes de 100 g, e guardadas em sacos plásticos sob refrigeração (4°C), para posterior extrações dos óleos essenciais. A extração foi realizada pela técnica de arraste de vapor de água num recipiente com ebulidor (gerador de vapor) ligado a um regulador de tensão. O fluxo de vapor produzido passou pelo material vegetal, dentro de um balão com capacidade para 500 mL, sendo, em seguida, condensado e recolhido em balão de 250 mL mantido em banho com água e gelo (FIG.1). O volume ótimo de líquido condensado (emulsão de água/óleo – hidrolato) necessário, para extrair todo o óleo essencial, foi de aproximadamente 1L, com fluxo de vapor ajustado para produzir tal volume em 4 horas. As frações orgânicas obtidas pela extração com diclorometano (3 extrações utilizando 80 mL do solvente) foram evaporadas em rotavapor, obtendo-se o óleo puro. (Mancini, 1984; Mwangi et al., 1981).

### Análise da atividade biológica

As culturas utilizadas para os bioensaios foram obtidas na micoteca do Departamento de Fitopatologia da UFLA.

Os óleos essenciais foram adicionados em meio de cultura previamente preparados [BDA, para *Fusarium oxysporum* Schlecht. e *Bipolaris sorokiniana* Shoemaker. e PCA, para *Botrytis cinerea* Pers. ] (Koller & Scheeinplug, 1987), obtendo-se as concentrações de 5, 50 e 500 mg Kg<sup>-1</sup>. Em seguida, os fungos foram inoculados (disco micelial de 0,5 cm de diâmetro) e incubados durante 7 dias à temperatura de 20 a 22°C, sob fotoperíodo de 12 horas luz e 12 horas escuro (Vitti, 1999; Lassak, 1988).

Iniciaram-se as avaliações do experimento após 48 horas da inoculação, por meio de medições diárias do crescimento micelial, e cada medição correspondeu à média de duas medidas diametralmente opostas da colônia fúngica, mediante o uso de uma régua graduada.

Os experimentos foram analisados estatisticamente por regressão, empregando o programa SANEST (Sistema de Análises Estatística).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

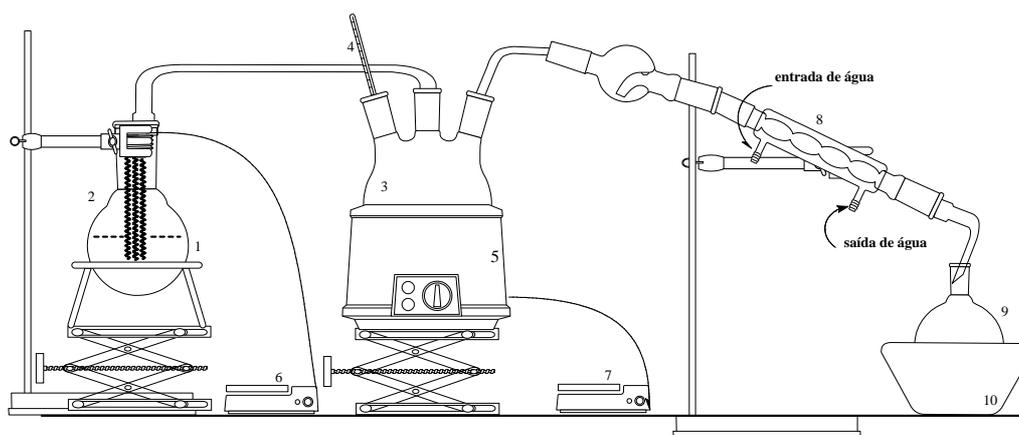
Os resultados obtidos estão nas Figuras 2, 3 e 4. A espécie *B. cinerea* (Figura 2) não apresentou diferença significativa no crescimento micelial para concentrações de 5 e 50 mg/Kg dos óleos das espécies de eucaliptos; entretanto, a 500 mg/Kg, o óleo essencial que apresentou maior atividade fungitóxica foi o da espécie *E. urophylla*.

Os ensaios que empregaram *F. oxysporum* (Figura 3) não apresentaram diferenças entre a testemunha e as concentrações de 5 e 50 mg/Kg, utilizando o óleo das três espécies de eucaliptos; no entanto, observou-se uma pequena diferença para 500 mg/Kg com as espécies *E. camaldulensis* e *E. citriodora*, e uma acentuada diferença para a espécie *E. urophylla*. Observou-se ainda uma mudança de coloração a 500 mg/Kg, tornando-se o micélio rosa mais escuro. Como as substâncias encontradas nos óleos apresentam grupo alcoólico, carbonilas

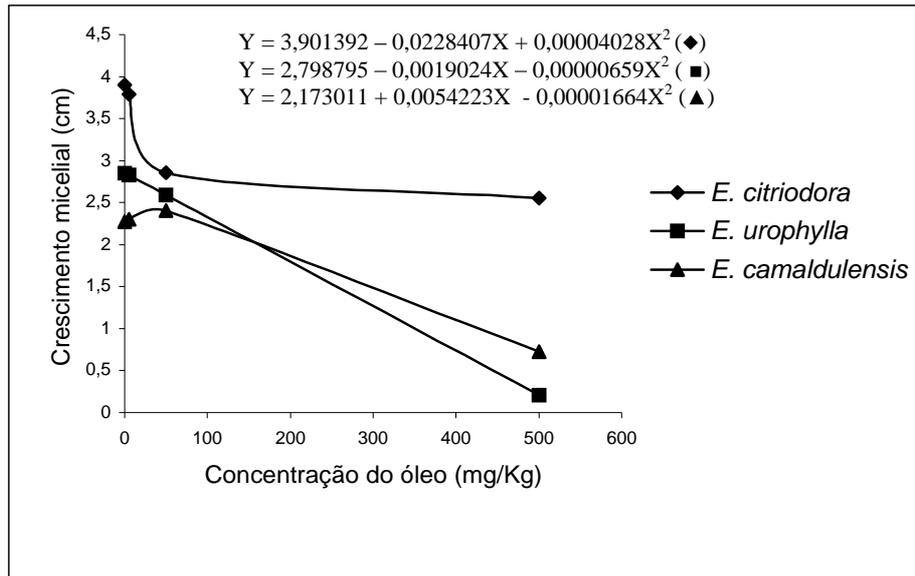
e duplas ligações, (Salgado et al., 2001) pressupõem-se que houve uma oxidação, ou os compostos foram metabolizados em outras substâncias, provocando a inibição do crescimento e alteração de cor dos micélios fúngicos.

Para o fungo *B. sorokiniana* (Figura 4), nenhuma diferença entre a testemunha e a concentração de 5 mg/Kg dos 3 óleos essenciais foi observada, permanecendo praticamente igual. Porém, uma diferença pequena apresentou-se a 50 mg/Kg e uma acentuada diferença, a 500 mg/Kg, na qual não houve crescimento significativo.

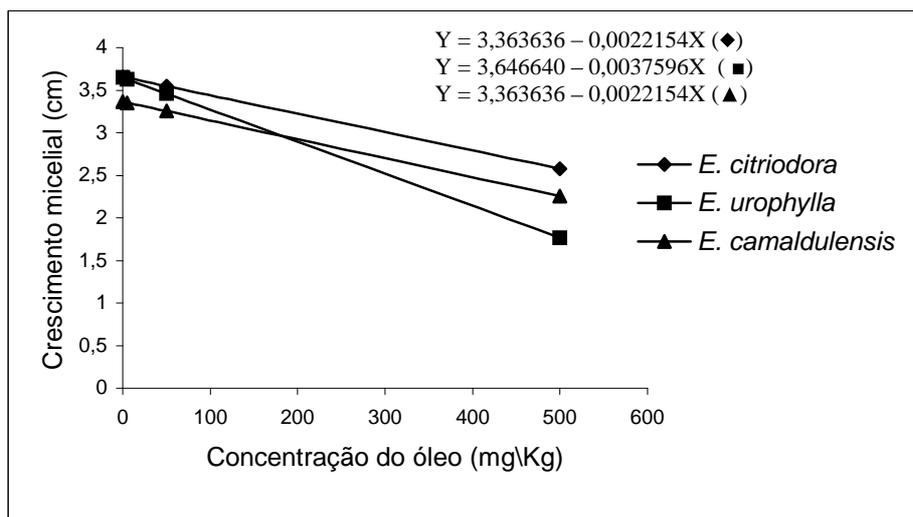
A acentuada ação fungitóxica do óleo essencial do *E. urophylla*, observada sobre os fungos testados, foi atribuída à presença do globulol, composto majoritário desse óleo, que não foi detectado nos óleos do *E. citriodora* e do *E. camaldulensis* (Salgado et al., 2001). A ação fungitóxica do globulol sobre o fungo *B. cinerea* também foi constatada por Aleu et al. (2001), no qual, para uma concentração de 100 e 200 mg/Kg do composto, foi observada inibição total do crescimento do fungo para 2 e 3 dias, respectivamente.



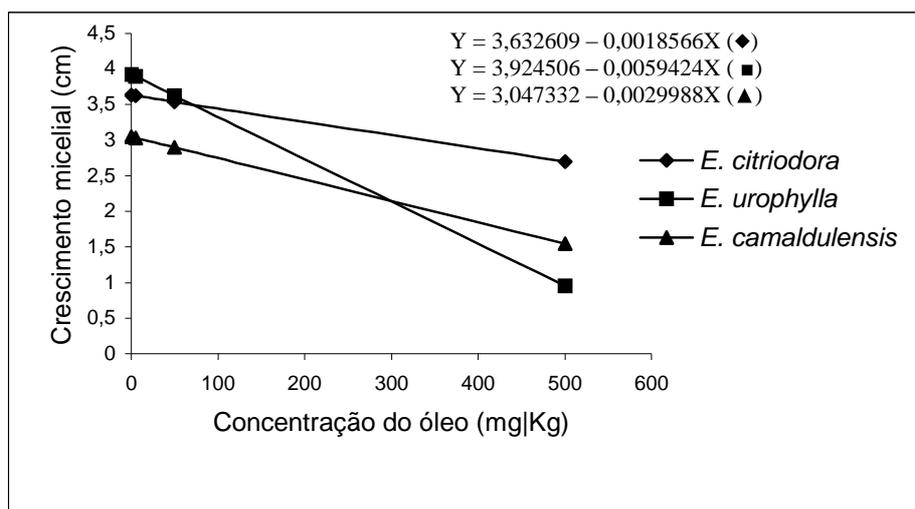
**FIGURA 1** – Representação esquemática do equipamento para extração de óleo essencial por arraste de vapor. 1 e 2-Balão de boca larga com fonte de aquecimento para ferver água e gerar vapor; 3-Balão de fundo redondo com três bocas onde foram colocadas as folhas verdes, 4-Termômetro, 5- Manta aquecedora, 6 e 7- Termostatos, 8- Condensador, 9- Recipiente para receber o hidrolato, 10- Cuba com gelo.



**FIGURA 2** – Crescimento micelial de *Botrytis cinerea* em diferentes concentrações de óleo de *Eucalyptus*



**FIGURA 3** – Crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* em diferentes concentrações do óleo de *Eucalyptus*.



**FIGURA 4** – Crescimento micelial do fungo *Bipolaris sorokiniana* em diferentes concentrações de óleo de *Eucalyptus*

### CONCLUSÕES

Os óleos essenciais de *E. urophylla*, *E. citriodora* e *E. camaldulensis* apresentaram diferentes potenciais fungitóxicos sobre os fungos *F. oxysporum*, *B. cinerea* e *B. sorokiniana*. Foram observadas variadas inibições nos crescimentos miceliais em todas as espécies para as diferentes concentrações dos óleos. No entanto, o óleo com maior ação fungitóxica foi de *E. urophylla*, sendo essa atribuída à presença do composto globulol, não detectado nos demais óleos.

### AGRADECIMENTOS

À CAPES e ao CNPq, pelos auxílios e bolsas de pós-graduação concedidas. A Dra. Maria das Graças Cardoso agradece ao CNPq pela bolsa de produtividade recebida.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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**, Amsterdam, v. 11, p. 329-334, 2001.

BOLAND, D. J.; BROPHY, J. J.; HOUSE, A. P. N. **Eucalyptus leaf oils: use, chemistry, distillation and marketing**. Melbourne: INKATA/ACIAR/CSIRO, 1991. 247 p.

CHAIBI, A.; ABABOUC, L. H.; BELASRI, K.; BOUCETTA, S.; BUSTA, F. F. Inhibition of germination and vegetative growth of *Bacillus cereus* T and *Clostridium botulinum* 62 A spores by essential oils. **Food Microbiology**, London, v. 14, p. 161-174, 1997.

CHARLES, D. J.; SIMON, J. E. Comparison of extraction methods for the rapid determination of essential oil content and composition of basil. **Journal of American society of Horticultural Science**, Alexandria, v. 115, n. 3, p. 458-462, May 1990.

DORAN, J. C.; BROPHY, J. J. Tropical red gums: a source of 1,8-cineole-rich *Eucalyptus* oil. **New Forest**, Dordrecht, n. 4, p. 157-178, 1990.

FERNANDES, M. C. A. Emprego de métodos alternativos de controle de pragas e doenças na olericultura. In: CONGRESSO IBERO-AMERICANO SOBRE UTILIZAÇÃO DE PLÁSTICO NA AGRICULTURA, 2.; SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE PRODUÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS, AROMÁTICAS E CONDIMENTARES 1., 2000, São Pedro. **Trabalhos...** Brasília: SOB/FCAV-UNESP, 2000; **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, p. 110-112, 2000. Suplemento.

KOLLER, W.; SCHEINPLUG, H. Fungal resistance to sterol biosynthesis inhibitors: a new challenge. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 71, n. 12, p. 1066-1074, Dec. 1987.

- LASSAK, E. V. The Australian. Eucalyptus oil industry, past and present. **Chemistry in Australia**, Victoria, v. 55, p. 396-398, 1988.
- LEMONS, T. L. G.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A. A.; CLARK, A. M.; McCHESNEY, J. D. Antimicrobial activity of essential oils of brazilian plants. **Phytotherapy Research**, Chichester, v. 4, n. 2, p. 82-84, 1990.
- MANCINI, B. Influência de tempo de destilação na composição quali e quantitativa de óleos essenciais. Essência de Hortelã do Brasil. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, Araraquara, v. 6, p. 1-7, 1984.
- MWANGI, J. W.; GUANTAI, A. N.; MURIUKI, G. *Eucalyptus citriodora*: essential oil content and chemical varieties in Kenya. **East African Agricultural and Forest Journal**, Nairobi, v. 46, n. 4, p. 89-96, 1981.
- OYEDEJI, A. O.; EKUNDAYO, O.; OLAWORE, O. N.; ADENIYI, B. A.; KOENIG, W. A. Antimicrobial activity of the essential oils of five *Eucalyptus* species growing in Nigeria. **Science Direct-Fitoterapia**, [S.l.], v. 70, p. 526-528, 1999.
- SALGADO, A. P. S. P.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, J. A.; SOUZA, P. E.; SHAN, A. Y. K. V.; GONÇALVES, L. D. Constituintes químicos do óleo essencial de folhas de *Eucalyptus* e sua atividade biológica. **Poços de Caldas: SBQ, 2001**.
- SIMÕES, C. M. O.; SHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 1999. 821 p.
- VITTI, A. M. S. **Avaliação do crescimento e do rendimento e qualidade do óleo essencial de procedências de *Eucalyptus citriodora***. 1999. 83 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Escola Superior de Agricultura “Luiz Queiroz”, Piracicaba.