

AÇÃO DE DIFERENTES ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE IN VITRO DE *Colletotrichum musae* DA BANANEIRA

ACTION OF DIFFERENT ESSENTIAL OILS IN THE IN VITRO CONTROL OF BANANA *Colletotrichum musae*

Thatiane Sevidanes da Silva^{1*}, Tércio da Silva de Souza¹  e Lilianne Gomes da Silva¹.

¹ Coordenadoria de Pesquisa Científica, Instituto Federal do Espírito Santo Campus Alegre Rodovia ES-482 (Cachoeiro-Alegre, Km 72 - Rive, Alegre – ES), 29500-000, Brasil.

*(thatisevidanes@gamil.com)

Artigo submetido em 29/12/2023, aceito em 21/04/2024 e publicado em 18/06/2024.

Resumo: O cultivo da bananeira é uma das culturas comerciais importantes em estados como o Espírito Santos, que infelizmente sofre com problemas relacionados a fungos, como o *Colletotrichum musae*. Utilizamos fungicidas sintéticos que são problemáticos e acabam criando resistência ao longo do tempo, além de serem tóxicos ao meio ambiente. Uma das opções para superar esse problema é a química de produtos naturais à base de óleos essenciais, que tem apresentado excelentes resultados em diversos estudos na literatura. Portanto, este trabalho teve como objetivo verificar a atividade dos óleos essenciais de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), eucalipto (*Eucalyptus globulus*), manjerição (*Ocimum basilicum*) e gengibre (*Zingiber officinale*) em concentrações obtidas de fontes comerciais. Os óleos foram caracterizados por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC-DIC) de espectrometria de massas (GMS), enquanto os testes fungicidas foram realizados diluindo a placa contendo o fungo *Colletotrichum musa*. No teste fungicida, apenas dois óleos apresentaram atividade: óleo de eucalipto e óleo de gengibre. Esses dois óleos alcançaram taxas de inibição semelhantes às do fungicida comercial Tecto®, com taxas de inibição superiores a 70% nas concentrações testadas de 0:1,50:2,50:2, 55:2,60:2, 65:3,00 µL /ml, a atividade fungicida destes dois óleos pode estar ligada à composição química. No óleo de eucalipto o principal componente é o eucalipto com 88,64%, enquanto no óleo de gengibre o α -zingibeno é o principal componente com 43,29% da área superficial. No óleo de alecrim o composto principal é o eucalipto com 48,74% e o óleo de manjerição o chavicol é o composto principal com 76,00%. Atualmente, estudos alternativos envolvem a utilização de extratos vegetais e óleos essenciais, procurando explorar a toxicidade de fúngica tendo em conta os fatores económicos, ecológicos e toxicológicos associados à sua produção agrícola. Portanto, neste estudo objetivou-se avaliar a eficácia do uso de óleos essenciais como alternativa no combate à podridão pós-colheita da banana causada por *C. musae*.

Palavras-chave: Antracnose da banana, óleos essenciais, atividade fungicida, cromatografia gasosa.

Abstract: Banana cultivation is one of the important commercial crops in states such as Espírito Santos, which unfortunately suffers from problems related to fungi, such as *Colletotrichum musae*. We use synthetic fungicides that are problematic and end up creating resistance over time, in addition to being toxic to the environment. One of the options to overcome this problem is the chemistry of natural products based on essential oils, which has shown excellent results in several studies in the literature. Therefore, this work aimed to verify the activity of essential oils of rosemary (*Rosmarinus officinalis*), Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*), basil (*Ocimum basilicum*) and ginger (*Zingiber officinale*) in concentrations obtained from commercial sources. The oils were characterized by gas chromatography with flame ionization detector (GC-DIC) mass spectrometry (GMS), while fungicide tests were conducted by diluting the plate containing the fungus *Colletotrichum musa*. In the fungicide test, only two oils showed activity: eucalyptus oil and ginger oil. These two oils achieved inhibition rates like those of the commercial fungicide Tecto®, with inhibition rates greater than 70% at tested concentrations of 0:1.50:2.50:2, 55:2,60:2, 65:3.00 µL/ml, The fungicidal activity of these two oils may be linked to their chemical composition. In eucalyptus oil the main component is eucalyptus with 88.64%, while in ginger oil α -zingibene is the main component with 43.29% of the surface area. In rosemary oil, the main compound is eucalyptus with 48.74% and in basil oil, chavicol is the main compound with 76.00%.

Keywords: Banana anthracnose, essential oils, fungicidal activity, gas chromatography.

1 INTRODUÇÃO

A bananeira (*Musa spp.*) crescem em regiões tropicais úmidas do Sudeste Asiático. Esta planta monocotiledônea é cultivada em cerca de 120 países, incluindo o Brasil. A nível nacional, a produção representa 6% do total mundial e 40% na América Latina. A região Sul do Brasil que corresponde por 10%, dos quais Santa Catarina responde por 60% (IBGE, 2016). As principais atividades de melhoria das culturas incluem controle de plantas invasoras, calagem, fluxo de produção e controle de doenças (SANTANA et al., 2017; CASARIL et al., 2019)

A produtividade das plantas pode ser afetada por diversas doenças, uma das principais doenças é antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum musae*, que pode causar perdas de produção de até 40% (SILVA et al., 2016). Esses frutos apresentam sérias limitações pós-colheita devido ao seu amadurecimento rápido, o que leva ao apodrecimento durante o manuseio e armazenamento, aumento da incidência de podridão e as predisposições a diversas doenças pós-colheita causadas por vários patógenos fúngicos. Como no caso da antracnose, vale destacar as deficiências do monitoramento nacional e falta de políticas para redução do uso de agrotóxicos ou de incentivos na agroecologia (PIGNATI et al., 2017). Em oposição ao uso de pesticidas, procuramos alternativas para melhorar os métodos de produção atuais utilizando métodos alternativos, como o uso de óleos essenciais para o controle de pragas.

Os óleos essenciais são substâncias naturais voláteis com uma composição lipofílica complexa, aromática e de baixo peso molecular, constituída principalmente por fenilpropanóide e mono e sesquiterpenoides. Pode ser encontrado em diversas partes das plantas, como folhas, raízes, flores, frutos e cascas do caule, e pode ser armazenado em pelos glandulares, ductos oleosos, células epidérmicas, cistos líticos ou células parenquimatosas diferenciadas (OOTANI et al., 2013). O uso agrícola deste produto inibe o crescimento micelial e a germinação de esporos devido ao seu potencial antifúngico. Isto significa que vida útil das bananas maduras é

relativamente curta, aproximadamente 6 a 8 dias em temperatura ambiente, limitando sua comercialização (AHMED; PALTA, 2016).

Controle químico com fungicidas utilizados isoladamente não reduz satisfatoriamente as perdas por antracnose, e o uso contínuo e intensivo de fungicidas pode interferir no controle biológico natural, afetando organismos não alvo e causando danos ambientais. Problemas e o surgimento de patógenos resistentes levam a surtos de doenças. (SOYLU et al., 2019). Os problemas à saúde humana e ambientais resultantes do uso indiscriminado de pesticidas que levaram à investigação de substâncias e tecnologias como alternativas de controle que possam reduzir o uso destes produtos químicos na produção de alimentos (SILVA et al., 2018).

Na natureza, pode haver uma variedade de plantas que podem ser resistentes a diferentes patógenos, inclusive aquelas com características fúngicas (VENTUROSOSO et al., 2017). Os compostos oriundos dessas plantas podem ser fortes candidatos a novos defensivos agrícolas com grande potencial (ZAKER, 2016). Entre os derivados de plantas que se destacam com propriedades que podem ser usados como alternativa ao manejo de fungicidas sintéticos têm-se os óleos essenciais, esses são misturas de compostos voláteis produzido por metabólito secundário de plantas com intuito de proteção (OOTANI et al., 2013).

Os constituintes comumente encontrados nos óleos essenciais são derivados, principalmente da via Biosintética do ácido mevalônico e do 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfato/1-desoxi-D-xilulose-5-fosfato. Este último da origem à maior classe de metabólitos secundários das plantas, os terpenos, que exibem uma ampla diversidade de estruturas e propriedades biológicas (DEWICK, 2009; DAVIET e SCHALK, 2010).

Dentro dessa perspectiva, esse trabalho teve como objetivo avaliar a atividade fungicida dos óleos essenciais de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), eucalipto (*Eucalyptus Globulus*), manjerição (*Ocimum basilicum*) e gengibre (*Zingiber officinale*), todos adquiridos de fonte comerciais, sobre o fungo *Colletotrichum*

musae, os produtos provenientes da natureza, de fonte vegetal e seus similares, representam uma fonte crucial de novos defensivos agrícolas empregados para combater doenças em plantas. Dentro desse grupo de produtos, os óleos essenciais se destacam, sendo considerados metabólitos secundários de plantas e apresentando baixa toxicidade para seres humanos.

Eles têm sido extensivamente estudados para seu potencial no controle de fitopatógenos, isso demonstra, então, que há ótimas perspectivas para empregar esses óleos experimentalmente no combate aos fitopatógenos, tanto em ambientes de estufa

quanto em campo. A utilização de substâncias de origem natural, com baixo potencial de toxicidade, revela-se vantajosa por representar um procedimento menos danoso para o meio ambiente.

2 PROCESSOS METODOLÓGICOS

2.1. Obtenção dos óleos essenciais

Os óleos essenciais de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), eucalipto (*Eucalyptus Globulus*), manjeriço (*Ocimum basilicum*) e gengibre (*Zingiber officinale*), adquirido comercialmente da empresa Ferquima (lote 161) e armazenado adequadamente em geladeira a -5°C no Laboratório de Fitoquímica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, Espírito Santo - Campus de Alegre.

2.1.2. Obtenção do isolado fúngico

Foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia do Instituto Federal do Espírito Santo (IFES), localizado no município de Alegre/ES. Os ensaios constam do uso de quatro óleos essenciais de eucalipto (*Eucalyptus Globulus*) da marca Bio essências o manjeriço (*Ocimum basilicum*) da marca Ferquímica, o gengibre (*Zingiber officinale*) da marca Bio essências e o alecrim (*Rosmarinus officinalis*) da Ferquímica, para o tratamento in vitro do isolado fúngico *Colletotrichum musae*, CCF 243 foi cedido pelo Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa.

2.1.3 Cromatografia a Gás Acoplado ao Detector de Ionização por Chamas (CG-DIC)

Os óleos essenciais foram analisados por cromatografia gasosa combinada com espectrometria de massa (GC-MS) (Shimadzu QP2010-Plus) com detector de ionização de chama (CG-DIC) (Shimadzu GC-2010 Plus) de acordo com um método customizado. De Souza et al. (2017). As seguintes condições cromatográficas foram utilizadas para ambas as análises: coluna capilar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm) com fase estacionária Rtx®-5MS (espessura de filme 0,25 μm); N₂ (para análise GC-DIC) e He (para análise GC-MS) foram utilizados como gases de arraste a uma vazão de 3,0 ml/min.

A temperatura do forno foi mantida a uma temperatura inicial de 40°C durante 3 min, depois aumentada gradualmente a uma taxa de $3^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até atingir 240°C , seguida de um programa de manutenção desta temperatura durante 5 min. Outras condições cromatográficas incluíram uma temperatura do injetor de 250°C , uma temperatura do detector de 280°C e uma razão de separação de 1:30. A análise CG-MC foi realizada utilizando um instrumento operacional eletroimpactor com energia de impacto de 70 e, velocidade de varredura de 1000, intervalo de varredura de 0,50 fragmentos/s e detecção de fragmentos na faixa de massa de 29 a 400 m/z. A identificação da composição química dos OEs foi realizada inserindo padrões e comparando seus espectros de massa com base no índice de retenção (RI) com aqueles encontrados nos bancos de dados de espectroscopia Willey7, NIST05 e NIST 05s (referência).

Uma mistura de n-alcanos lineares (C₇-C₄₀) foi usada como padrão para calcular IR. O IR calculado para cada composto foi comparado com valores relatados na literatura (Adams, 2007) e calculado usando a equação do expoente de retenção de temperatura programada linearmente.

2.1.4. Cromatografia a Gás Acoplado ao Detector de Massas (CG-EM)

As análises de massas foram realizadas em um cromatógrafo da marca Shimadzu modelo QP2010 Plus com detector de espectrometria de massas (CG-EM) funcionando por impacto eletrônico com energia de impacto de 70 eV; com velocidade de varredura 1.000; intervalo de varredura de 0,50 fragmentos/segundo e fragmentos detectados de 29 a 400 (m/z) e como gás de arraste foi empregado o He. A comparação para identificação dos compostos foi feita com a biblioteca do equipamento, sendo elas, NIST05, NIST05s, NIST12, NIST62 e Willey 7 (DE SOUZA et al., 2017).

2.1.3. Índices de retenção lineares programados por temperatura (LTPRI)

As amostras de óleos foram submetidas aos cálculos (Equação 1) de índices de retenção (LTPRI) com uso de uma mistura de n alcanos lineares (C7 a C40). Os valores obtidos com os cálculos de índice de retenção foram comparados com a literatura (ADAMS, 2007).

$$\text{LTPRI}(i) = 100 \cdot n + 100 \cdot [(tR(i) - tR(n)) / (tR(n+1) - tR(n))] \text{ (Eq. 1)}$$

Onde: i, é o composto de interesse; n é o número de átomos de carbono do hidrocarboneto com tempo de retenção imediatamente anterior ao tempo de retenção de i; tR(i), é o tempo de retenção ajustado de n; tR(n), é o tempo de retenção ajustado de Z; tR(n+1), é o tempo de retenção ajustado do hidrocarboneto com tempo de retenção imediatamente posterior ao tempo de retenção de i.

O percentual relativo de cada composto do óleo essencial foi calculado através da razão entre a área integral de seus respectivos picos e a área total de todos os constituintes da amostra, dados estes obtidos pelas análises CG-FID, sendo considerados os compostos com área relativa acima de 1% para a definição da composição.

2.2. Avaliação antifúngica do óleo essencial sobre o *Colletotrichum musae*

Uma solução estoque foi elaborada sob a forma de uma emulsão, contendo 50 microlitros por mililitro, composta por 5% em peso dos óleos essenciais e 1% em volume de polissorbatos 80 como emulsificante (Tween80®). A partir dessa solução estoque, foram preparadas soluções

com concentrações de 0: 1,50: 2,50: 2,55: 2,60: 2,65 e 3,00 µL mL⁻¹. Como controle negativo, foi preparada uma solução de água destilada contendo 1% (v v⁻¹) de emulsificante polissorbatos 80 (Tween80®), e como controle positivo, utilizou-se o *Lasioidiplodia theobromae* na dosagem de 0,92 µL mL⁻¹, conforme o trabalho de Peixoto et al., (2023).

Os tratamentos foram delineamento experimental inteiramente atualizado, medido diariamente, sendo cada repetição representada por Placas de Petri (9 cm de diâmetro) contendo 5 mm de micélio solidificado e padronizado do patógeno. O isolado de *Colletotrichum musae* foi obtido no acervo do Laboratório Biotecnologia do Ifes – Campus Alegre. Os materiais utilizados foram esterilizados em autoclave por 20 min. Os fungos foram obtidos por replicação, normalizados para 7 dias de crescimento em BOD de 25°C e fotoperíodo de 12h. Para montar o teste, use uma Placa de Petri 9X15mm autoclavada e adicione 20 ml de meio e 1 mg/L de antibiótico amoxicilina. Sendo para os óleos essenciais que foram indicados no teste foi estipulada para repetições cada, sendo as mesmas condições estabelecidas para o C- (controle negativo).

As placas foram vedadas com filme de PVC, identificadas e colocadas em incubadora BOD com fotoperíodo de 12 horas (claro/escuro), temperatura de 25 ± 1 °C por sete dias. Seguido da realização da avaliação do crescimento radial das colônias, em dois eixos ortogonais medidos com auxílio de régua milimétrica (30 cm) (JAMALI, SOHRABI e KOHANMOO, 2021; BAHRAMINEJAD, SEIFOLAHPOUR e AMIRI, 2016).

Os ensaios foram realizados em triplicata. Para avaliar o efeito dos óleos no crescimento do fungo em *C. musae*, eles foram adicionados ao meio de fluxo BDA (dextrose-batata-ágar) a fim de obter as respectivas concentrações de acordo com o método descrito. Como controle, usando placas contendo apenas meio BDA, despejando em Placas de Petri (9mm) e após a solidificação, usa-se quadros normalizados de 5 mm de diâmetro e micélios de patógenos.

Transfira para o centro do prato, estes foram selados com plástico filme PVC e incubados a 25°C. As avaliações foram realizadas diariamente, 7 dias após o teste, quando as

colônias atingiram a superfície da Placa. A inibição do crescimento do halo e a inibição percentual do crescimento das hifas foram determinadas a partir dos resultados obtidos. A atividade antifúngica dos óleos essenciais foi avaliada por meio da percentagem de inibição do crescimento micelial (PICM), conforme proposto por Silveira et al. (2003) (Equação 2).

$$\text{PICM} = (\text{Dt} - \text{Dn}) / (\text{DT} - 5) \times 100 \text{ (Eq. 2)}$$

Onde: PICM - Inibição do crescimento micelial (%); Dn - média das duas medições (mm) de diâmetro das colônias do tratamento n; Dt - média das duas medições (mm) da testemunha (sem presença dos óleos essenciais); 5 - diâmetro dos discos de micélio (mm). O crescimento micelial foi avaliado medindo-se o tamanho da colônia durante 7 dias e a cada 24 horas, com os resultados obtidos de análises semanais. Após as avaliações notou-se que os óleos foram parcialmente eficazes, sendo que o óleo de eucalipto e gengibre alcançou nível de inibição considerável.

2.3. ANÁLISE DE DADOS

Para realizar as análises estatísticas o software R Studio versão 4.3.1 foi utilizado. Com esse software foi feito a Anova ($p < 0,05$), e teste de média de Tukey ($P < 0,05$) com uso dos pacotes ExpDes.pt.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Tabela 1, encontram-se listadas as composições químicas dos quatro óleos essenciais analisados, o óleo essencial de alecrim, foram identificados 10 compostos, sendo o eucaliptol, cânfora e α -pineno os mais abundantes. A classe dominante nesse óleo é a dos monoterpenos oxigenados, representando 72,65% da área relativa. Hussain et al. (2010) identificaram no óleo de alecrim o eucaliptol (38,5%), seguido pela cânfora (17,1%) e α -pineno (12,3%), resultados semelhantes aos da Tabela 1. Por sua vez, Jafari-Sales e Pashazadeh (2020) reportaram um perfil químico similar ao da Tabela 1 para o óleo de alecrim, com teores de eucaliptol a 21,8%, α -pineno a 18,7% e cânfora a 14,6%. No estudo de El-Demerdash, El-Sayed e Abdel-Daim (2021), o α -pineno foi o

composto predominante no óleo essencial de alecrim, com uma área relativa de 13,64%.

Tabela 1. Caracterização dos óleos essenciais de *Rosmarinus officinalis* (A), *Eucalyptus Globulus* (E), *Ocimum basilicum* (M) e *Zingiber officinale* (G) pelo índice LTPRI e CG-MS

Pico	IR ^[b]	IR ^[c]	Composto	Área Relativa (AR) % ^[d]			
				A	E	M	G
1	929	932	α -Pineno	10,93	-	-	-
2	943	946	Canfeno	1,93	-	-	-
3	973	974	β -Pineno	8,13	-	-	-
4	1029	1024	Limoneno	1,24	-	-	-
5	1034	1026	Eucaliptol	48,74	88,64	-	-
6	1107	1095	Linalol	1,46	-	22,32	-
7	1152	1141	Cânfora	19,42	-	-	-
8	1175	1165	Borneol	1,70	-	-	-
9	1201	1186	α -Terpineol	1,33	5,69	-	-
10	1213	1247	Chavicol	-	-	76,00	-
11	1413	1389	β -Elemeno	-	-	-	1,23
12	1443	1417	Cariofileno	5,48	-	-	-
13	1575	1452	α -Humoleno	-	-	1,62	-
14	1512	1479	α -Curumeno	-	-	-	16,81
15	1527	1493	α -Zingibereno	-	-	-	43,99
16	1540	1505	β -Bisaboleno	-	-	-	17,95
17	1557	1521	β -Sesquifeldreno	-	-	-	20,02
Total não identificados				-	5,67	-	-
Monoterpenos hidrogenados				22,23	-	-	-
Monoterpenos oxigenados				72,65	94,33	22,32	-
Sesquiterpenos hidrogenados				5,48	-	1,62	100,00
Sesquiterpenos oxigenados				-	-	-	-

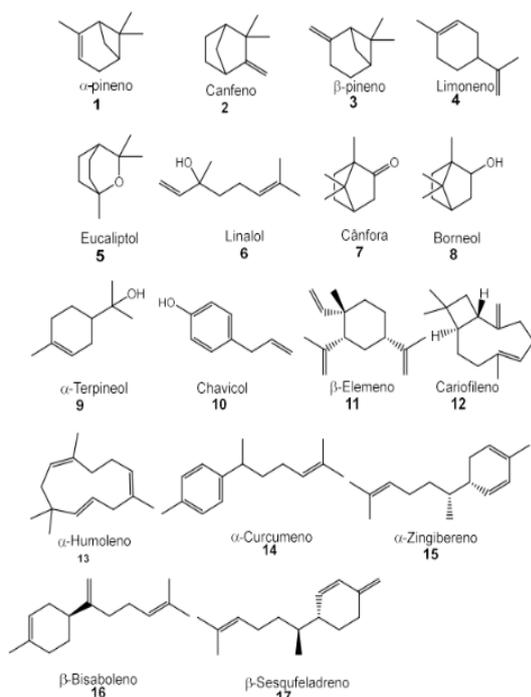
[a] compostos identificados pelo índice LTPRI e por CG-MS usando uma coluna Rtx®-5MS. [b] calculado usando uma mistura de n-alcenos saturados (C7 a C40). [c] Índices tabelados com base em ADAMS, 2007. [d] identificados apenas compostos com área relativa > 1%.

No óleo essencial de eucalipto foram identificados em sua composição apenas dois compostos, sendo o eucaliptol o majoritário. Harkat-Madouri et al. (2015) também encontrou o eucaliptol como composto majoritário no óleo essencial de eucalipto, (AR = 55,29%) corroborando com perfil químico da Tabela 1. O eucaliptol também foi encontrado no óleo essencial de alecrim, mas neste caso, majoritário é o p-cimeno (HAFSA et al., 2016). Já no óleo essencial de manjeriço foram identificados três compostos, os principais são o chavicol e linalol, a literatura apontam que o metil-chavicol e linalol como majoritários para o manjeriço (OXENHAM, SVOBODA e WALTERS, 2005).

No óleo essencial de gengibre foram identificados cinco compostos, o majoritário foi o α -zingibereno, a classe predominante foi de sesquiterpenos hidrogenados. Abdullahi et al. (2020) e Raina et al., (2005) também encontraram o α -zingibereno como principal composto no gengibre. No trabalho de Dehghani-Samani et al., (2019) apontam o geraniol como majoritário para óleo essencial de gengibre) dos outros, os óleos de alecrim, eucalipto e manjeriço possuem em sua composição a predominância de monoterpenos oxigenados. Já o óleo de gengibre possui 100% de sua composição com sesquiterpenos hidrogenados. Com o eucaliptol e α -terpineol sendo os compostos em comuns apenas os óleos essenciais de alecrim e eucalipto. Na Figura 1

pode-se observado a estrutura dos 18 compostos encontrados nos quatro óleos essenciais.

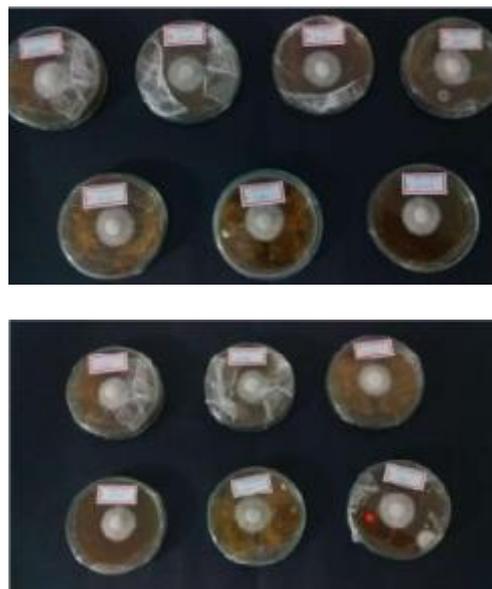
Figura 1: Estrutura molecular identificadas nos óleos essenciais de *Rosmarinus officinalis* (A), *Eucalyptus Globulus* (E), *Ocimum basilicum* (M) e *Zingiber officinale* (G).



3.2. Avaliação antifúngica in vitro sobre o *Colletotrichum musae*

Os resultados obtidos nos ensaios fungicidas estão expressos na Figura 2. Todas as concentrações testadas foram comparadas estatisticamente com fungicida comercial (Tecto®). Os óleos essenciais que estatisticamente apresentaram médias semelhantes ao fungicida comercial foram o de eucalipto e o de gengibre em todas as concentrações avaliadas. Assim como o fungicida comercial, esses óleos essenciais, nas concentrações testadas, conseguem inibição do crescimento micelial do *C. musae* acima de 70% para o óleo essencial de eucalipto e gengibre.

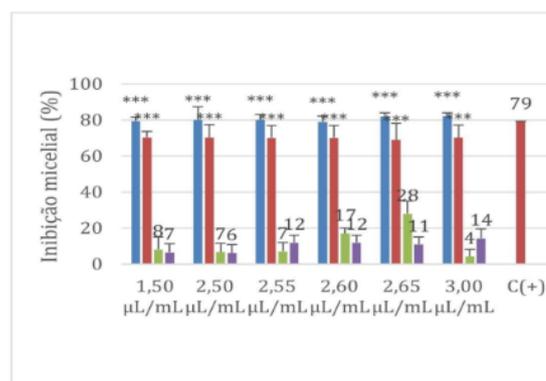
Figura 2: Crescimento micelial de *Colletotrichum musae* com uso de óleos essenciais de eucalipto e manjerição nos tratamentos avaliados (Tratamentos: Diluição e o Controle negativo (C-)) em diferentes concentrações.



Fonte: autor próprio.

Ao observar a Figura 3 podemos notar que o óleo de alecrim possui baixa atividade sobre o crescimento micelial do fungo, o que pode ocasionado por conta das substâncias presente no óleo que são voláteis, oscilam através do tempo de incubação, porém, podemos notar que as suas concentrações aumentam de forma gradativamente a inibição micelial do fungo até chegar na concentração de 3,00 $\mu\text{L}/\text{mL}$, onde a inibição volta a cair. Com a concentração anterior de 2,65 $\mu\text{L}/\text{mL}$ tendo a maior inibição média para esse óleo com 28%.

Figura 3: Efeito dos óleos essenciais de *Rosmarinus officinalis* (A), *Eucalyptus Globulus* (E), *Ocimum basilicum* (M) e *Zingiber officinale* (G) sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum musae*.



As médias foram comparadas com controle positivo. Teste de Dunnett (***) $P < 0,001$, ** P valor $< 0,01$, * $P < 0,05$. Controle positivo, C(+): Fungicida Tecto®, na dose recomendada pelo fabricante (0,92 $\mu\text{L}/\text{mL}$) verde(OEE), amarelo(OEG), azul(OEM) e azul claro (OEA).

Já o óleo de manjerição a maior inibição foi conseguido com a concentração de 3,0 $\mu\text{L}/\text{mL}$

com o valor de inibição micelial de 14% mostrando um retardo no crescimento micelial nestas concentrações mais altas, assim a medida de inibição de crescimento reduziu nos dias iniciais, os óleos essenciais de alecrim e manjeriço não obtiveram ação efetiva.

O eucaliptol é reportado na literatura por sua atividade sobre o *C. musae*, e é um monoterpene oxigenado que possui atividade sobre fungos (KIM et al., 2018; KAUSHALYA e PARANAGAMA, 2012). Para ensaios de atividade biológica, fungicida e outros, com mistura de compostos faz-se necessário observar os efeitos sinérgicos e antagônicos.

Todos os óleos essenciais testados, independente das concentrações apresentaram atividade inibitória sobre o crescimento micelial de *C. musae* quando submetidos a relação significativa entre concentração para inibir o crescimento micelial. A composição e quantidade dos óleos essenciais podem afetar os mecanismos de ação sobre patógeno. Os óleos essenciais interagem com enzimas e proteínas de membrana de microrganismos, criando um fluxo de prótons em direção ao exterior da célula, causando mudança no interior e assim, sua morte.

Os óleos essenciais são relatados na literatura tem atividade fungicida contra algumas doenças pós-colheita em frutas e vegetais tropicais, tem a vantagem de ser mais seguro para o meio ambiente do que sintético. Todos os óleos essenciais testados, independente das concentrações utilizadas apresentaram atividade inibitória sobre o crescimento micelial de *C. musae*.

No entanto, apenas os óleos de eucalipto e gengibre nas maiores concentrações 2,50 e 3,00 $\mu\text{L/ml}$ inibiram totalmente o crescimento micelial do patógeno, com valores de diâmetro das colônias de 8,00 cm. No tratamento controle o crescimento micelial obteve valores de diâmetro da colônia fúngica superior a sete cm de diâmetro, enquanto os tratamentos

com as respectivas concentrações o crescimento micelial reduziu gradativamente conforme ao aumento da concentração de 0 a 3,00 $\mu\text{L/ml}$.

Figura 4: Inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum musae*, *Rosmarinus officinalis* (A), *Eucalyptus Globulus* (E), *Ocimum basilicum* (M) e *Zingiber officinale* (G).

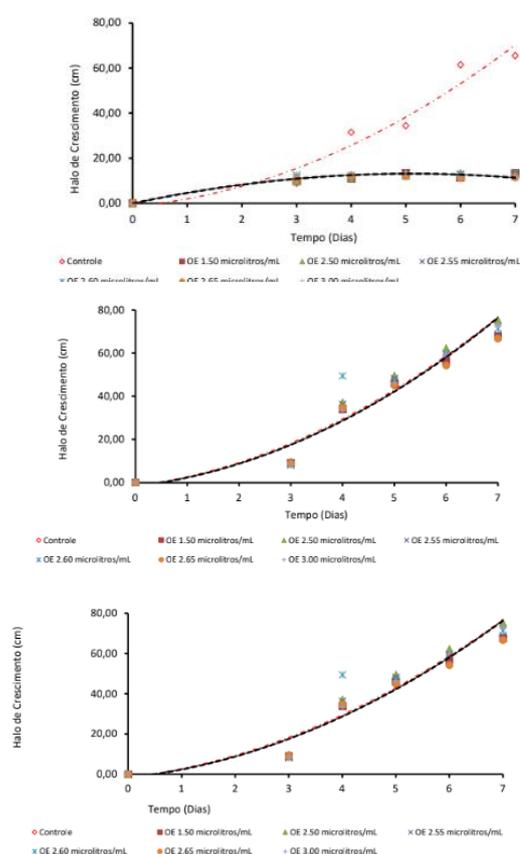
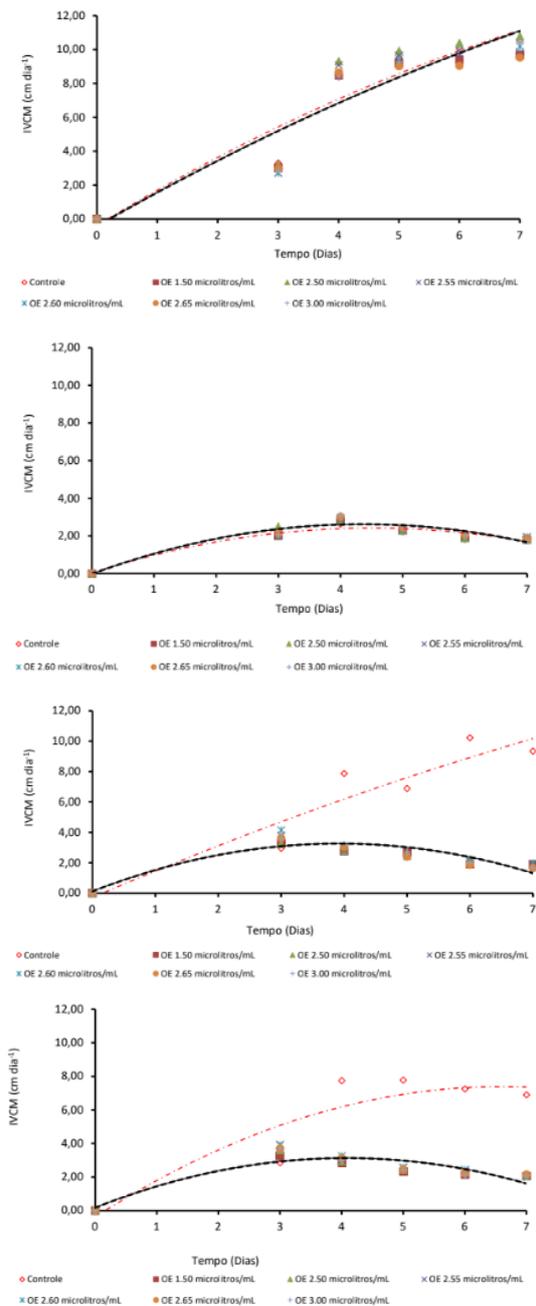


Figura 5: Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) *Colletotrichum musae*, *Rosmarinus officinalis* (A), *Eucalyptus Globulus* (E), *Ocimum basilicum* (M) e *Zingiber officinale* (G).



Na maior concentração (3,00µL/ml-1), os tratamentos com os óleos essenciais foram significativamente mais eficientes na inibição do crescimento micelial, seguido dos ensaios de menor inibição nestas concentrações foi observada com a utilização da medida diária. Sendo em menores concentrações, apresentaram algum efeito sobre o fungo, porém este efeito não foi em função da concentração, como observado nas figuras e ficaram bem abaixo da inibição máxima obtida com o ensaio de concentração máxima.

Possuindo atividade de combate a diversos patógenos resistentes a antibióticos, e tem demonstrado potencial para ser utilizado como antimicrobiano natural, os óleos essenciais vêm sendo testado para mostrar sua eficácia contra patógenos de alimentos e microrganismos deteriorantes representando um método natural e eficaz.

5 CONCLUSÃO & PERSPECTIVAS

Os óleos de eucalipto e gengibre apresentaram atividade sobre o *C. musae*, com inibição micelial semelhante ao fungicida comercial Tecto©. Tanto o fungicida quanto os óleos conseguiram taxas de inibição acima de 70%. Já os óleos de alecrim e manjerição, não mostraram atividade sobre o *C. musae*. A atividade fungicida dos óleos essenciais de eucalipto e gengibre podem estar associados à sua composição química. Já composição química do óleo de gengibre mostrou o α -zingibereno com 43,29%, já o óleo de eucalipto possui como principal composto eucaliptol com 88,64%. O óleo de manjerição o chavicol foi o composto majoritário com 76,00% de área relativa e do alecrim, o eucaliptol também foi o composto principal com 48,74%. Os óleos usados de eucalipto e gengibre possuem potencial para serem usados para o desenvolvimento de um fungicida natural, estudos futuros in vivo são necessários para averiguar todo potencial desses óleos. Dentre os fatores que influenciam na qualidade dos compostos naturais, a idade da planta, o tipo do tecido e até mesmo as condições do ambiente de cultivo podem alterar a disponibilidade, quantidade e qualidade da composição química dos tratamentos. Isso pode explicar o porquê das discrepâncias encontradas nos resultados de trabalhos que testam os mesmos produtos, sob eles fitopatógenos, nas mesmas condições. Ainda são necessários estudos da utilização desses produtos in vivo, com relação as dosagens, modo de aplicação, temperatura, verificação de alterações nas propriedades sensoriais dos frutos, dentre outros. Destaca-se a importância da realização de mais estudos mostrando o potencial dos óleos essenciais como uma alternativa promissora para o manejo de doenças pós-colheita em frutos.

AGRADECIMENTOS

Instituto Federal do Espírito Santo - Campus de Alegre, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e a Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo.

REFERÊNCIAS

ABDULLAHI, A. et al. Phytochemical profiling and antimicrobial activity of ginger (*Zingiber officinale*) essential oils against important phytopathogens. *Arabian Journal of Chemistry*, v. 13, n. 11, p. 8012-8025, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.09.031> Acesso em: 26 de out. 2023.

ASBAHANI, A. E. et al. Essential oils: From extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 483, n. 1-2, p. 220-243, abr. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.069> Acesso em: 28 de out. 2023.

BAHRAMINEJAD, SOHBAT; SEIFOLAHPOUR, BEHNAZ; AMIRI, REZA. Antifungal effects of some medicinal and aromatic plant essential oils against *Alternaria solani*. *Journal of Crop Protection*, v. 5, n. 4, p. 603-616, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.18869/modares.jcp.5.4.603> Acesso em: 11 de nov. 2023.

BIZZO, H. R.; REZENDE, C. M. O mercado de óleos essenciais no Brasil e no mundo na última década. *Química Nova*, v. 45, p. 949-958, 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170889> Acesso em: 16 de nov. 2023.

COUTO, E.F.; MENEZES, M. Caracterização fisiomorfológica de isolados de *Colletotrichum musae*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.29, n.4 p.406-412, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S01004158200400400008> Acesso em: 16 de nov. 2023.

DE SOUZA, T. S. et al. Essential oil of *Psidium guajava*: Influence of genotypes and environment. *Scientia Horticultura e*, v. 216, p. 38-44, 2017. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2016.12.026> Acesso em: 16 de nov. 2023.

DEHGHANI-SAMANI, A. et al. In-vitro anti-giardial activity and GC-MS analysis of *Eucalyptus globulus* and *Zingiber officinale* essential oils against *Giardia lamblia* cysts in simulated condition to human's body. *Annals of parasitology*, v. 65, n. 2, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.17420/ap6502.192> Acesso em: 15 de nov. 2023.

DEL PONTE, E. M. (Ed.) *Fitopatologia.net - herbário virtual*. Departamento de Fitossanidade. Agronomia, UFRGS. 2004. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/186879?show=full> Acesso em: 09 de nov. 2023.

DEWICK, P. M. *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. Ed. 3. John Wiley & Sons, 2009. 546p. ISBN 978-0-470-74168-9. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/7698365/mod_resource/content/1/Dewick_2009.pdf Acesso em: 06 de nov. 2023.

EL-DEMERDASH, F. M.; EL-SAYED, R. A.; ABDEL-DAIM, M. M. Rosmarinus officinalis essential oil modulates renal toxicity and oxidative stress induced by potassium dichromate in rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, v. 67, p. 126791, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2021.126791> Acesso em: 13 de nov. 2023.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Top production, Brasil, 2011. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site.> Acesso em: 22 de nov. 2023.

HAFSA, J. et al. PHYSICAL, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan films containing *Eucalyptus globulus* essential oil. *LWT-Food Science and Technology*, v. 68, p. 356-364, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.12.050> Acesso em: 24 de nov. 2023.

- HARKAT-MADOURI, L. et al. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil of *Eucalyptus globulus* from Algeria. *Industrial Crops and Products*, v. 78, p. 148-153, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.10.015>>> Acesso em: 14 de nov. 2023.
- HUSSAIN, A. I. et al. *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 41, p. 1070-1078, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822010000400027>> Acesso em: 10 de nov. 2023.
- JAFARI-SALES, A.; PASHAZADEH, M. Study of chemical composition and antimicrobial properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in vitro. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, v. 3, n.1, p. 62-69, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.38001/ijlsb.693371>> Acesso em: 04 de nov. 2023.
- JAMALI, F.; SOHRABI, F.; KOHANMOO, M. A. Entomopathogenic fungi and plant essential oils are not compatible in controlling *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Plant Diseases and Protection*, v. 128, p. 799-808, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s41348-021-00430-5>> Acesso em: 20 de nov. 2023.
- KAUSHALYA, G. H. T. C.; PARANAGAMA, P. A. Volatile Constituents of *Alpinia malaccensis* Rhizomes & Its Antifungal Activity against *Colletotrichum musae* & *Lasiodiplodia theobromae*, 2012. Disponível em: <http://repository.kln.ac.lk/handle/123456789/3831>> Acesso em: 17 de nov. 2023.
- KIM, H. M. et al. Antifungal and Antiaflatoxigenic Activities of 1, 8-Cineole and *t*-Cinnamaldehyde on *Aspergillus flavus*. *Applied Sciences*, v. 8, n. 9, p. 1655, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/app8091655>> Acesso em: 10 de nov. 2023.
- OOTANI, M. A. et al. Use of essential oils in agriculture. *Journal of biotechnology and biodiversity*, v. 4, n. 2, p. 162-174, 2013. Disponível em: https://docs.uft.edu.br/share/proxy/alfresco/oauth/api/internal/shared/node/rPIBaVK4SXGvovZO5cyXvg/content/8_ootani.pdf> Acesso em: 02 de nov. 2023.
- OXENHAM, S. K.; SVOBODA, K. P.; WALTERS, D. R. Antifungal activity of the essential oil of basil (*Ocimum basilicum*). *Journal of phytopathology*, v. 153, n. 3, p. 174-180, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2005.00952.x>> Acesso em: 12 de nov. 2023.
- PEIXOTO, P. M. C., JÚLIO, A. A., JESUS, E. G. D., VENANCIO, A. N., PARREIRA, L. A., SANTOS, M. F. C., MENINI, L. Fungicide potential of citronella and tea tree essential oils against tomato cultivation's phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and analysis of their chemical composition by GC/MS. *Natural Product Research*, 1-6, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2184358>> Acesso em: 12 de nov. 2023.
- R version 4.3.1 (2023-06-16 ucrt) -- "Beagle Scouts" Copyright (C) 2023 The R Foundation for Statistical Computing Platform: x86_64-w64-mingw32/x64.
- RAINA, V. K.; KUMAR, A.; AGGARWAL, K. K. Essential oil composition of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) rhizomes from different place in India. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, v. 8, n. 2, p. 187-191, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/0972060X.2005.10643442>> Acesso em: 08 de nov. 2023.
- SILVA, M.B. et al. Uso de princípios bioativos de plantas no controle de fitopatógenos e pragas. *Informe Agropecuário*, v. 31, n. 255, p. 70-77, 2018. Disponível em: <http://187.72.210.67:8080/consulta/busca?b=ad&id=2831&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22FONSECA,%20Maira%20Cristina%20Marques%22&qFacets=autoria>

[:22FONSECA,20Maira20Christina20Marques22&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1](#)> Acesso em: 09 de nov. 2023.

SILVEIRA, L.; JÁCOMO, A. T.; DINIZ-FILHO, J. A. 2003. Camera trap, line transect census and track surveys: a comparative evaluation. *Biological Conservation*, Disponível em:< DOI: [10.1016/S0006-3207\(03\)00063-6](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(03)00063-6)> Acesso em: 26 de dez. 2023.

SOYLU, E.M. et al. In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea* *International Journal of Food Microbiology*, v. 143, n. 3, p. 183-189, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.08.015>> Acesso em: 11 de nov. 2023

TAN, W. Qi; LOH, X. J. *Essential Oils: From Extraction to Encapsulation. Polymer Capsules*: Jenny Stanford Publishing, p. 265-92, 2019. ISBN 978042942873-9. Disponível em:<https://books.google.com.br/books?hl=ptBR&lr=&id=quiYDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA265&dq=TAN,+Wen+Qi%3B+LOH,+Xian+Jun.+Essential+Oils:+From+Extraction+to+Encapsulation.+Polymer+Capsules:+Jenny+Stanford+Publishing.+p.+265-2092,+2019.+ISBN+9780429428739.&ots=0yk3CtszJ3&sig=OmPYHfeazfmC3GP1C6qWiN3l2co&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false> Acesso em: 16 de nov. 2023

VENTUROSOSO, L. R. et al. Influência de diferentes metodologias de esterilização sobre a atividade antifúngica de extratos aquosos de plantas medicinais—Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Agrárias-Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 12, n. 4, p. 499-5. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1516-05722010000400014>> Acesso em: 19 de nov. 2023

ZAKER, M. Natural plant products as eco-friendly fungicides for plant diseases control-A

review. *The Agriculturists*, v. 14, n. 1, p. 134-141, 2016. Disponível em:

<https://www.researchgate.net/profile/MasoudZaker/publication/305816390_Natural_Plant_Products_as_Ecofriendly_Fungicides_for_Plant_Diseases_Control_-_A_Review/links/57a9935f08aed1b22624d2e7/Natural-Plant-Products-as-Eco-friendly-Fungicides-for-Plant-Diseases-Control-A_Review.pdf> Acesso em: 21 de nov. 2023