



CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE PALMAROSA SOBRE *Fusarium guttiforme*

Gabriel F. A. Vieira¹; Maria Alice B. Silva²; Aldino N. Venancio²; Ráysa F. Pastore²; Luciana A. Parreira¹; Luciano Menini²

¹Universidade Federal do Espírito Santo/Departamento de Química e Física, Alto Universitário s/n, Guararema, 29500-000, Alegre-ES, Brasil

²Instituto Federal do Espírito Santo – Campus de Alegre/Departamento de Química, BR 482, Rodovia Cachoeiro/Alegre, Km 47, Distrito de Rive - 29520-000- Alegre-ES, Brasil

Palavras-Chave: Fusariose, crescimento micelial, *Cymbopogon martini*

Introdução

O abacaxi (*Ananas comosus* L. Merrill) é uma fruta tropical de grande importância econômica. No Brasil em 2022 foram mais de 1.500.000 frutos produzidos, com uma área colhida de 64.147 hectares, sendo o Pará o maior produtor nacional (IBGE, 2022) o que possibilitou emprego e renda para inúmeras famílias.

Em escala nacional as cultivares Pérola e Smooth Cayenne são as mais plantadas (Gonçalves, 2000). Entretanto a cultura é alvo de problemas fitossanitários, entre eles estão aqueles causados por insetos, nematóides, vírus, bactérias e fungos. Sobre as doenças causadas por fungos, a fusariose está entre as principais (Souza et al., 2017).

A fusariose do abacaxi tem como agente etiológico o fungo *Fusarium guttiforme* (Matos e Cabral, 2006). Quando infectada, a planta libera uma exsudação na região lesionada, que pode estar na parte basal, caule e folha do fruto. Em estágio mais severo o abacaxi vai apodrecer, liberando um cheiro de fermentação (Souza et al. 2017).

Entre as práticas mais comuns de controle da doença, está a pulverização com produtos químicos sintéticos (Souza et al. 2017). Sabe-se que esses agentes, têm grande importância para o desenvolvimento da agricultura, mas seu uso desordenado além de favorecer o desenvolvimento de espécies resistentes ao princípio ativo e mecanismo de ação, compromete o meio ambiente e saúde humana (El Khetabi et al., 2022; Giri, 2019).

Neste cenário, surgem as propostas de substituir ou somar ao uso dos defensivos químicos sintéticos os métodos alternativos de controle. Trabalhos utilizando óleo essencial de vegetais ao longo dos anos vem chamando a atenção de pesquisadores (Antonioli et al., 2020; Bassolé et al., 2011). Entre as espécies estudadas está a palmarosa (*Cymbopogon martinii*) (Lin et al., 2023; Miranda, 2021; Oliveira Filho et al., 2021).

Objetivou-se com o presente trabalho, avaliar o potencial antifúngico do óleo essencial de palmarosa (*C. martinii*) sobre *Fusarium guttiforme*. Agricultura contemporânea trás com ela, inúmeros avanços tecnológicos, entretanto ainda é escasso produtos usados no campo que não trazem desequilíbrios ambientais e riscos à saúde humana, insistir em estudos que possam minimizar tais impasses é de fundamental importância para o desenvolvimento de uma agricultura sustentável.



Material e Métodos

Determinação da composição química do óleo essencial de palmarosa

O OE de Palmarosa (*C. martini*) foi adquirido de forma comercial da marca Ferquímica. A caracterização química foi realizada por cromatografia gasosa (cromatógrafo marca *Shmadzu* (GC 2010-Plus) com detector de ionização em chama (CG-DIC) e por cromatografia a gás com detector de espectrografia de massas (CG-MS) (cromatógrafo marca *Shimadzu* (QPMS 2010-Plus).

Os compostos do OE de palmarosa foram identificados por meio da comparação dos espectros de massas com a espectroteca disponível no CG-EM e pelos índices de retenção LTPRI, os quais foram calculados pela comparação dos tempos de retenção dos compostos presentes no OE de palmarosa com os tempos de retenção do cromatograma obtido no CG-DIC de uma mistura de n-alcanos C7 a C40 nas mesmas condições de análise utilizadas para analisar o óleo. Os índices de retenção calculados foram comparados com os valores descritos na literatura (Adams, 2007).

Preparo da emulsão estoque com óleo essencial de palmarosa

Para o preparo da solução estoque ($50 \mu\text{L mL}^{-1}$) foi feita uma solução utilizando OE Tween 80 (utilizado como emulsificante) e água destilada. A mistura foi acomodada em banho ultrassom (cuba ultrassônica marca Critófoli), na frequência de 42 kHz, durante 45 minutos, para ser homogeneizada. Posteriormente, essa solução estoque emulsionada foi fracionada para os diferentes tratamentos definidos e diluídos em meio BDA (Batata Dextrose Ágar).

Realização do bioensaio de atividade antifúngica

Foi utilizado no experimento o isolado *F. guttiforme* (CCF 449), doado pelo departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa – UFV *Campus* de Viçosa, previamente identificado. Para o teste de atividade antifúngica, sete dias antes da montagem do experimento, discos do micélio do fungo isolado foram repicados em placa de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) e incubados a $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, sob fotoperíodo de 12 horas claro/escuro, em estufa do tipo BOD (*bichemical oxygen demand*), para favorecer o desenvolvimento fúngico.

Todo o procedimento de teste biológico, foi realizado dentro de uma câmara de fluxo laminar horizontal. Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) e foram testadas 6 concentrações de OE, com cinco repetições, sendo elas 0,039; 0,078; 0,313; 0,625; 1250 e $2500 \mu\text{L mL}^{-1}$, as quais foram incorporadas ao meio de cultura BDA + amoxicilina e posteriormente vertidas em placas de Petri esterilizadas de 8 centímetros de diâmetro. Como controle negativo foi utilizado uma solução contendo 1% de emulsificante Tween 80 e água destilada e como controle positivo foi utilizado o fungicida Tebuconazol + Trifloxistrobina (Produto comercial Nativo®) na concentração de $0,19 \mu\text{L mL}^{-1}$.

Após a solidificação do meio com seus respectivos tratamentos nas placas de Petri, um disco de micélio do fungo com 4 milímetros de diâmetro foi adicionado ao centro de cada placa.

Em seguida, foram vedadas com plástico filme e incubadas em estufa incubadora do tipo BOD com temperatura de 25 ± 1 °C, sob fotoperíodo de 12 horas claro/escuro. Para analisar a porcentagem de inibição do crescimento micelial exercida por cada tratamento, após sete dias da montagem do teste, com paquímetro digital foram realizadas medições diametralmente opostas do halo da colônia.

Para estimativa da CI_{50} (concentração que inibe 50% do crescimento fúngico) e percentual de inibição do crescimento micelial os dados foram submetidos a análise descritiva, análise de variância (ANOVA) a 5% de probabilidade e regressão utilizando o software R versão 4.3.1 e Excel. As diferenças significativas observadas pelo teste F ($p < 0,01$) foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), usando o software R versão 4.3.1.

Resultados e Discussão

A análise fitoquímica do OE de palmarosa, demonstrou a presença de 5 compostos com porcentagem em área maior que 1%. O geraniol foi o majoritário (85,08%), seguido por acetato de geraniol (8,96%) (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização pelo índice LTPRI e CG-MS do óleo essencial de *Cymbopogon martinii* [a].

Pico	IR ^[b]	IR ^[c]	Nome	Área% ^[d]
1	1040	1044	(E)-β-Ocimeno	1,41
2	1091	1095	Linalol	2,64
3	1260	1249	Geraniol	85,08
4	1374	1379	Acetato do Geraniol	8,96
5	1409	1417	(E)-Cariofileno	1,89

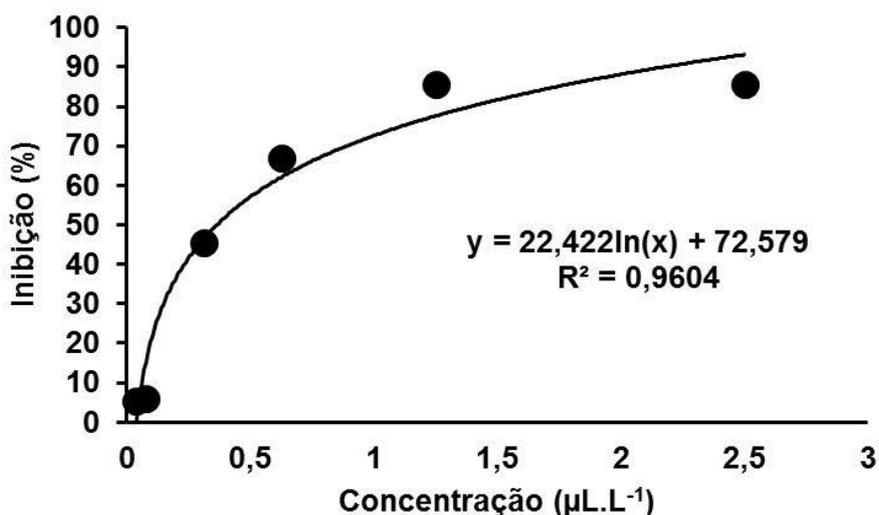
[a] Compostos identificados pelo índice LTPRI e por CG-MS usando uma coluna Rtx®-5MS. [b] Calculado usando uma mistura de n-alcenos saturados (C7 a C40). [c] Índices tabelados com base em ADAMS, 2007. [d] Área relativa com base no cromatograma da Figura 1, identificados apenas compostos com área relativa > 1%. [e] Não identificados. Fonte: Os autores, 2024.

Nilofer et al. (2023) também realizaram a caracterização química do OE de palmarosa, como compostos majoritários os autores obtiveram o geraniol (89,9%) e acetato de geraniol (3,0%). Jummes et al. (2020) também trabalhando com OE de palmarosa relataram como compostos majoritários o geraniol (70,26%) e acetato de geranila (26,71%).

Os OEs são misturas complexas de compostos terpênicos, os quais estão sujeitos a variações quantitativas e qualitativas, que se deve a fatores como origem do material, época de colheita, tipo de secagem, métodos de extração, entre outros (Kamal et al., 2023; Erdogan et., 2022). Suas propriedades biológicas estão atreladas a esses compostos, que agem por ação isolada ou sinergia (Lin et al., 2023; Kalhor, 2022).

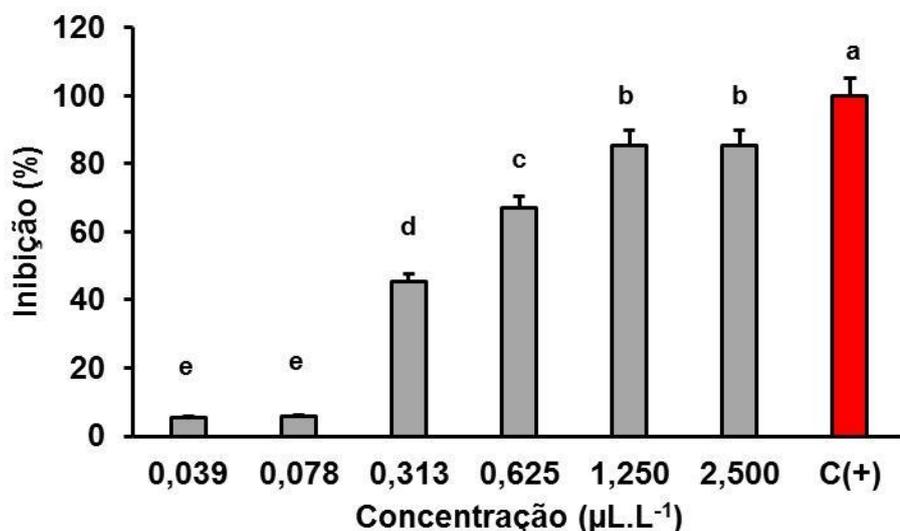
O OE de palmarosa apresentou efeito antifúngico significativo ($P < 0,05$) sobre o crescimento micelial do fungo *F. guttiforme*. A CI_{50} foi estimada em $0,365 \mu\text{L mL}^{-1}$ (Figura 1). A concentração de $1,250 \mu\text{L mL}^{-1}$ e $2,500 \mu\text{L mL}^{-1}$ inibiram 85,40% o crescimento micelial do *F. guttiforme*, apesar de terem uma porcentagem de inibição menor que a do controle positivo (Figura 2) o resultado é animador, pois em baixas concentrações foi possível retardar o desenvolvimento fúngico com produto à base de compostos naturais que apresenta todos os benefícios das bioformulações.

Figura 1: Percentual de inibição do crescimento micelial de *F. guttiforme* em função dos diferentes tratamentos de OE de palmarosa.



Fonte: Os autores, 2024.

Figura 2: Comparação de diferentes concentrações do OE de palmarosa com controle positivo (nativo), sobre o crescimento de *F. guttiforme*, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).



Fonte: Os autores, 2024.

O uso de óleo essencial para o controle de doenças que acometem culturas agrícolas é vantajoso pois, diferente de produtos sintéticos empregados atualmente, produtos de origem vegetal não são prejudiciais à saúde humana, ambiental e organismos não alvo, além de dificultar a resistência dos fitopatógenos (El Khetabi *et al.*, 2022; Giri, 2019).

O OE de palmarosa (geraniol 83,82%; acetato de geranila 7,49%) também apresentou atividade antifúngica sobre *Botrytis cinérea*, fungo responsável por causar o mofo cinzento no morango, nos testes *in vitro* pelos métodos de contato direto, a vapor, germinação de esporos e diluição em micropoços. Além disso, nos testes *in vivo* o óleo diminuiu a incidência e severidade da doença (Oliveira Filho *et al.*, 2021)

Lin *et al.* (2023) avaliaram o efeito antifúngico de palmarosa sobre *Aspergillus flavus*, fungo que contamina comódites agrícolas como milho e a soja, os autores concluíram que além de causar danos na morfologia do micélio, o óleo destruiu proteínas da membrana e inibiu a produção de toxinas de *A. flavus*. Resultados como esses deixam claro que é promissor o uso do OE de palmarosa para o controle de fitopatógenos.

Conclusões

Com esse trabalho, foi possível observar que o óleo essencial de palmarosa (*Cymbopogon martinii*) apresenta ação antifúngica sobre o fungo *Fusarium guttiforme*, fungo que causa grandes perdas na cultura do abacaxi. A caracterização química do OE de palmarosa revelou a presença de 5 compostos com porcentagem em área superior a 1%, sendo o geraniol e o acetato de geraniol os compostos majoritários.

Nos bioensaios de crescimento micelial, todos os tratamentos interferiram no desenvolvimento fúngico, a CI_{50} foi estimada em $0,365 \mu\text{L mL}^{-1}$. As concentrações de $1,250 \mu\text{L mL}^{-1}$ e $2,500 \mu\text{L mL}^{-1}$ demonstraram mais de 80% de inibição.

Os resultados encontrados nos testes *in vitro* são positivos, pois comprovam que com produtos oriundos de espécies botânicas, podem ser desenvolvidas novas estratégias para o manejo e controle da fusariose do abacaxi, o que pode ajudar no desenvolvimento de uma agricultura sustentável.

Agradecimentos

Ao IFES (Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Espírito Santo) - Campus de Alegre e UFES (Universidade Federal do Espírito Santo) – Campus de Alegre pela disponibilidade da infraestrutura, à FAPES (Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo), CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e ao FORTAC (Fortalecimento da Agricultura Capixaba) pelo apoio financeiro.

Referências

ADAMS, R. P. *et al.* Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Carol Stream, IL: Allur. Publis. Corporat, 2007.

IBGE, 2022. Índice Brasileiro de Geografia e estatística – Produção de Abacaxi. <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/abacaxi/br>. Acesso em 10 de agosto de 2024.

ANTONIOLI, G. *et al.* Poly(lactic acid) nanocapsules containing lemongrass essential oil for postharvest decay control: In vitro and *in vivo* evaluation against phytopathogenic fungi. Food Chemistry v. 326, p. 126997, 2020.



BASSOLÉ, I.H.N. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils alone and in combination. *Phytomedicine*, p. 1070-1074, 2011.

EL KHETABI et al. Role of plant extracts and essential oils in fighting against postharvest fruit pathogens and extending fruit shelf life: A review. *Trends in Food Science & Technology* p. 402-417, 2022.

ERDOGAN, U. Antioxidant activities and chemical composition of essential oil of rhizomes of *Zingiber officinale* (ginger) and *Curcuma longa* L.(turmeric). *International Journal of Secondary Metabolite*, v. 9, n. 2, p. 137-148, 2022.

GIRI, P. Biopesticides as a pathway towards sustainable greener world. *Journal of Research of Life Sciences, Bioinformatics, Pharmaceutical and Chemical Sciences*, p. 894, 2019.

GONÇALVES, N.B. Abacaxi: pós - -colheita. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000.

JUMMES, B. et al. Antioxidant and antimicrobial poly- ϵ -caprolactone nanoparticles loaded with *Cymbopogon martinii* essential oil. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, v. 23, p. 101499, 2020.

KALHORO, M. T. et al. Fungicidal properties of ginger (*Zingiber officinale*) essential oils against *Phytophthora colocasiae*. *Scientific Reports*, v. 12, n. 1, p. 1-10, 2022.

KAMAL, G. M. et al. Yield and Chemical Composition of Ginger Essential Oils as Affected by Inter-Varietal Variation and Drying Treatments of Rhizome. *Separations*, v. 10, n. 3, p. 186, 2023.

LIN, L. et al. A new strategy: Inhibitory effect and mechanism of *Cymbopogon martinii* essential oil on *Aspergillus flavus*. *Food Bioscience*, v. 51, p. 102315, 2023.

MATOS, A. P.; CABRAL, J. R. S. Evaluation of pineapple genotypes for resistance to *Fusarium subglutinans*. *Acta Horticulturae*, n. 702, p. 73-77, 2006.

MIRANDA, T. F. Uso de óleos essenciais no controle da fusariose do abacaxi. 2021. 37 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Centro de Ciências Agrárias e Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2021.

NILOFER, N. et al. Influence of the Season on the Quantity and Chemical Composition of the Essential Oil and Synthesis of Secondary Metabolites in *Cymbopogon martinii* (Roxb.) Wats. *Agrotechniques in Industrial Crops*, v. 3, n. 4, p. 170-191, 2023.

OLIVEIRA FILHO, J. G. de et al. Chemical composition and antifungal activity of essential oils and their combinations against *Botrytis cinerea* in strawberries. *Journal of Food Measurement and Characterization*, v. 15, p. 1815-1825, 2021.

SOUZA, F.V.D. et al. Abacaxizeiros (*Ananas* spp.) cultivados e silvestres. 32p, Argentina: IICA/PROCISUR, 2017.