

EXTRATOS DE CANDEIA (*Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish) NA INIBIÇÃO IN VITRO DE *Cylindrocladium scoparium* E DE QUATRO ESPÉCIES DE FERRUGENS

Maria Eloísa Salustiano¹, Antonio Carlos Ferraz Filho²,
Edson Ampélio Pozza³, Hilário Antônio de Castro³

(recebido: 10 de agosto de 2005; aceito: 25 de janeiro de 2006)

RESUMO: Avaliou-se a atividade de extratos de folhas e de um óleo essencial da candeia sobre a germinação de urediniósporos ferrugens, *Puccinia psidii*, *Hemileia vastatrix*, *Phakopsora pachyrhizi*, e *Cerotelium fici* e sobre o crescimento micelial de *Cylindrocladium scoparium*. Os urediniósporos de todas as ferrugens não germinaram, exceto no tratamento testemunha. A inibição do crescimento micelial de *C. scoparium* foi maior no extrato metanólico (52%), com conseqüente redução da produção de esporos. Os tratamentos chá a 10% e óleo essencial a 1% reduziram (25%) o crescimento micelial de 28 a 34% produção de esporos, respectivamente. Assim os extratos de *E. erythropappus* devem ser estudados para controle dessas ferrugens e *C. scoparium* em eucalipto e outros hospedeiros.

Palavras-chave: Ferrugem, tombamento, métodos alternativos.

EXTRACTS OF CANDEIA (*Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish) IN THE INHIBITION IN VITRO OF *Cylindrocladium scoparium* AND FOUR RUST SPECIES

ABSTRACT: The study aimed at studying leaf extracts and essential oils of *Eremanthus erythropappus* on spore germination of four rust species: *Puccinia psidii*, *Hemileia vastatrix*, *Phakopsora pachyrhizi* and *Cerotelium fici*, and on mycelial growth of *Cylindrocladium scoparium*. The fungitoxic effect of the extracts used led to absence of urediniospore germination in all rust etiologic agents tested. Mycelial growth inhibition of *C. fici* was higher with methanol extract (52%), subsequently reducing spore production. Treatments with tea at 10% and essential oil at 1% reduced mycelial growth (25% for both treatments) and spore production (28% and 34%, respectively). Therefore, *Eremanthus erythropappus* extracts should be studied for controlling rust and *C. scoparium* in eucalyptus.

Key words: rust, damping off, alternative methods.

1 INTRODUÇÃO

A utilização de variedades resistentes é o controle mais eficiente e econômico de doenças. Entretanto, comercialmente essas variedades ainda não foram largamente distribuídas ou são inexistentes. O controle químico é o método mais utilizado, principalmente em patossistemas de importância econômica como a ferrugem do cafeeiro - *Hemileia vastatrix* Berk & Br. (GODOY et al., 1997), da soja - *Phakopsora pachyrhizi* Sydow & P. Sydow (YORINORI et al., 2003); do figo - *Cerotelium fici* Cast. (Arth (GALLETI & REZENDE, 1997),

ferrugem da goiabeira - *Puccinia psidii* Winter (PICCININ & PASCHOLATI, 1997) e o tombamento do eucalipto - *Cylindrocladium scoparium* Morgan (KRUGNER & AUER, 1997).

A tentativa de reduzir o uso de fungicidas com o objetivo de minimizar o impacto ambiental e evitar selecionar populações resistentes do patógeno tem motivado a procura de princípios ativos de extratos vegetais e os óleos essenciais. Os resultados obtidos nessa linha de pesquisa nos últimos anos no Brasil revelaram grande potencial inexplorado da flora brasileira como uma fonte de biofungicidas a serem utilizados nas diversas culturas (BAPTISTA et al.,

¹ Bolsista RD do CNPq, Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – msalustiano@yahoo.com.br

² Bolsista de Iniciação Científica do CNPq, Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG.

³ Professor do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – eapozza@ufla.br ; proad@ufla.br

2003; BASTOS & ALBUQUERQUE, 2004; BENATO et al., 2002; DANTAS et al., 2003; MOREIRA et al., 2002; TAKATSUKA et al., 2003).

A maioria das plantas da flora brasileira é desconhecida quanto às suas propriedades químicas e biológicas. Pouco se sabe sobre as atividades biológicas de substâncias isoladas de plantas medicinais cultivadas e silvestres (DI STASI, 1996). Como essas substâncias, na forma bruta ou pura, podem ser de grande utilidade no manejo integrado de doenças, é importante realizar-se estudos com essas substâncias para se desenvolver métodos de controle de menor impacto ambiental (BAPTISTA et al., 2003). Nesse contexto, as espécies de *Eremanthus* (Candeias), da família Asteracea, são plantas pouco exploradas. As candeias ocorrem desde o Estado da Bahia ao Rio Grande do Sul (CARVALHO, 1994; TEIXEIRA et al., 1996). Dentre várias espécies, a *E. erythropappus* (DC.) MacLeish Sin. (*Vanillosmopsis erytropappa*) tem múltiplos usos. Do seu lenho tem-se produzido óleos essenciais, cujo princípio ativo, alfabisabolol, possui propriedades antiflogísticas, antibacterianas, antimicóticas, dermatológicas e espasmódicas. Atualmente, o alfabisabolol é utilizado na fabricação de medicamentos e cosméticos (BRASIL, 2005).

A atividade do óleo de candeia e suas frações purificadas foram testadas na inibição do crescimento e na reversão da resistência a antibióticos contra *Staphylococcus aureus*. (*Rosenbch*). Esse patógeno é oportunista e causador de infecções comunitárias e hospitalares além de resistente a quase todas as drogas desenvolvidas nos últimos 50 anos. O óleo essencial e duas frações de baixa polaridade apresentaram forte efeito inibitório e bactericida sobre cinco isolados de *S. aureus* na concentração de 0,05%. A combinação do antibiótico ampicilina com o óleo ou suas frações foi também letal à bactéria mencionada (OLIVEIRA et al., 2004).

A importância do alfabisabolol na indústria farmacêutica deve-se, sobretudo, às suas propriedades antibacterianas e antimicóticas, porém, até o momento, essas propriedades não foram avaliadas para doenças de plantas. Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar *in vitro* a atividade fungitóxica de extratos vegetais e do óleo essencial de *E. erythropappus*; sobre a germinação de urediniósporos de quatro espécies de ferrugens e o

crescimento micelial de *Cylindrocladium scoparium*, um dos agentes etiológicos do tombamento em mudas de *Eucalyptus* sp.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção dos extratos

O extrato bruto a 20% e o metanólico, foram preparados a partir de folhas jovens do terço superior das mudas de candeia com seis meses de idade. Para isso, as folhas foram picadas manualmente e colocadas no liquidificador na proporção de 20 g/100 ml de água. Após filtração em gaze, o extrato bruto foi deixado em geladeira a 5°C, de acordo com Iqbal et al. (2001). Para se obter o chá a 20%, as folhas foram secas a sombra por 48 horas, picadas manualmente e colocadas em água, na proporção de 20 g/100 ml e aquecida à temperatura de 72°C por 10 minutos. Após duas horas de repouso, o extrato foi filtrado em gaze e deixado em geladeira a 5°C, metodologia modificada de Couto et al. (2003). O extrato metanólico (EM) foi obtido com 20 g de folhas picadas manualmente e colocadas em 100 ml de metanol por 24 horas, após filtração em gaze, e repouso na câmara de exaustão até a completa evaporação do solvente, o resíduo foi ressuspenso em Tween 80, e armazenado em geladeira a 5°C de acordo com Baptista et al. (2003). O óleo essencial (OE) - o Alfabisabolol - foi obtido pelo método de extração por arraste a vapor (PÉREZ, 2001).

2.2 Obtenção dos isolados

Os urediniósporos de *P. psidii* utilizados neste trabalho foram coletados em frutos de goiabeira provenientes de Carmo do Paranaíba-MG e multiplicados em mudas de jambeiro (*Syzygium jambos* (L.) Alston). Os urediniósporos de *H. vastatrix*, *P. pachyrhizi* Sydow e *C. fici* foram coletados em seus respectivos hospedeiros em áreas experimentais da UFLA. O isolado de *C. scoparium* CML-202 foi obtido da coleção micológica (CML) do laboratório de sistemática e ecologia de fungos da UFLA, repicado e mantido em meio de cultura malte-água a 2% (DHINGRA & SINCLAIR, 1995).

2.3 Germinação *in vitro* de urediniósporos de *P. psidii*, *H. vastatrix*, *P. pachyrhizi* e *C. fici*.

O teste de germinação de quatro espécies de ferrugens foi realizado em esquema fatorial

5 x 4, com cinco tratamentos (EB, EM chá, óleo essencial e testemunha) e as quatro espécies de ferrugens deu-se em delineamento inteiramente ao acaso, com três repetições, sendo uma placa por repetição.

O EB, o EM o chá e o OE foram incorporados em meio ágar - água a 2% fundente e vertidos em placas de petri de quatro centímetros de diâmetro. A concentração final do EB, EM e do Chá foi de 10%; e a do OE de 1%. O meio ágar-água 2% foi utilizado no tratamento testemunha. Após a solidificação do meio, a suspensão de urediniósporos, na concentração de 0,5 mg/ml foi vertida nas placas, e incubadas a 20 ± 1°C por 48 horas. A porcentagem de germinação foi avaliada contando-se 300 urediniósporos por repetição.

2.4 Inibição do crescimento micelial de *C. scoparium*

O teste de crescimento micelial foi realizado utilizando o EM, o chá, o OE e a testemunha. Os tratamentos foram incorporados ao meio malte-ágar fundente, em delineamento inteiramente ao acaso com cinco repetições sendo, duas placas por repetição. Um único disco de 0,5 cm de diâmetro da cultura de *C. scoparium* foi repicado para o centro de cada placa contendo o tratamento seguindo-se a incubação a 25°C, por sete dias, com fotoperíodo de 12 horas. Mediram-se o diâmetro da colônia descontando-se o disco de cultura. Posteriormente quantificou-se a porcentagem de inibição do crescimento micelial em relação à testemunha (EDINGTON, 1971). Determinou-se número médio de esporos por tratamento utilizando-se a câmara de 'Newbauer'.

As variáveis significativas no teste F da análise de variância foram submetidas ao teste de médias Tukey a 5%. As análises foram realizadas no programa SAS versão 8.1.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve germinação dos urediniósporos em todos os extratos utilizados. Na testemunha, a germinação foi de 85, 79, 31 e 13,3% para *P. pachyrhizi*, *H. vastatrix*, *C. fici* e *P. psidii*, respectivamente. Os extratos das folhas de candeia foram efetivos no controle dessas ferrugens tanto quanto o óleo essencial retirado do lenho. Na obtenção desses extratos utilizaram-se diferentes técnicas: em água fria, em água aquecida, com solvente orgânico, metanol e por arraste a vapor, demonstrando que a eficiência de controle independe do método de extração, seja ele simples ou elaborados.

Com relação à inibição do crescimento micelial de *C. scoparium* observou-se que os melhores resultados foram obtidos com extrato metanólico (Tabela 1). O EM reduziu o crescimento micelial em 52,97% e a produção de esporos em 89,6%. Os tratamentos com chá e óleo essencial diferiram significativamente da testemunha e, não diferiram entre si, quanto à inibição do crescimento micelial e produção de esporos. Nenhum dos extratos testados foi submetido a qualquer tipo de esterilização. A avaliação do crescimento de *C. scoparium* em relação ao EB incorporado ao meio MA foi suprimida por este propiciar crescimento abundante de saprófitas durante sete dias de incubação. O efeito deste extrato poderá ser verificado *in vitro* após a esterilização do mesmo em testes futuros, ou mesmo em ensaios *in vivo*.

Tabela 1 – Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *C. scoparium* e produção de esporos nos extratos metanólico, chá e óleo essencial de *E. erythropappus*¹.

Table 1 – Percentage of induction of micelial growth in *C. scoparium* and spore production in methanolic extracts of tea and essential oil from *E. erythropappus*¹.

Tratamentos	Porcentagem de inibição do crescimento micelial	Porcentagem de inibição da produção de esporos
Extrato metanólico 10%	52,97 a	89,66 a
Chá 10%	25,75 b	28,29 b
Óleo essencial 1%	25,89 b	34,50 b

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste Tukey (P< 0,05%)

¹- Em relação à testemunha (0%)

A maior atividade antimicrobiana do EM 'in vitro' contra *C. scoparium* revelou que a inibição do *C. scoparium* foi mais efetiva com o solvente orgânico. Wençiao et al. (2004) também obtiveram maior eficácia contra oomicetos, basidiomicetos e ascomicetos em plantas tratadas com extratos preparados a partir de solventes orgânicos.

Quase todos os membros da família Asteraceae são conhecidos por conterem sesquiterpenos em sua constituição. O Alfabisabolol encontrado nas folhas e no óleo essencial da candeia contém sesquiterpenos os quais são citotóxicos. (BRAUM et al., 2003; IQBAL et al., 2001). O extrato de *Ageratum conyzoides*, uma planta daninha pertencente à família Asteraceae que também contém sesquiterpenos, inibiu em 70% o crescimento micelial de *Rhizoctonia solani*, *Aspergillus niger* e *Phomopsis theae* desta planta (IQBAL et al., 2001).

4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos até o momento com extratos e óleo essencial de candeia reiteram a atividade do Alfabisabolol como produto antimicrobiano. O Alfabisabolol poderá ser aproveitado na agroindústria tal como já contribui na indústria farmacêutica, (BRAUM et al., 2003; SARFAM, 2005; VICHNEWSKI et al., 1989). Deve-se também considerar a necessidade de avaliar concentrações desses extratos 'in vivo' no sentido de obter a validação para o uso na agricultura.

5 AGRADECIMENTOS

Ao professor do Departamento de Ciências Florestais Fábio Akira Mori pelo incentivo e disponibilidade.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAPTISTA, J. C.; AMARAL, D. R.; VILAS-BÔAS, C. H.; RESENDE, M. L.V.; OLIVEIRA, D. F. Efeito de extratos vegetais na germinação de esporos de *Crinipellis pernicioso* (stahel) Singer. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 36., 2003, Uberlândia. **Resumos...** Uberlândia: SBF, 2003. p. S343.

BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, P. S. B. Efeito do óleo *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotricum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 5, p. 555-557, set./out. 2004.

BENATO, E. A.; SINGRIS, J. M. M.; HANASHIRO, M. M.; MAGALHÃES, M. J. M.; BINOTTI, C. S. Avaliação de fungicidas e produtos alternativos no controle de podridões pós-colheita em maracujá-amarelo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 27, n. 4, out./dez. 2002.

BRASIL. Ministério da Ciência e Tecnologia. **Resposta técnica:** produtos químicos. Brasília, DF: CETEC, 2005. Disponível em: <<http://sbrt.Ibict.Upload/sbrt629pdf>>. Acesso em: 3 out. 2004.

BRAUM, N. A.; MEIER, M.; KOHLENBERG, B.; HARMMERSCHMIDT, F. J. Two new bisabolene diols from the stem wood essential oil *Vanillosmopsis erythropappa* Schultz-Bip. (asteraceae). **Journal of Essential Oil Research**, San Francisco, may 2003. Disponível em: <http://www.findarticles.com/p/articles/mi_ga.4091/is_200305>. Acesso em: 3 out. 2004.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras:** recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira. Brasília, DF: EMBRAPA-CNPQ, 1994. 640 p. (Relatório técnico).

COUTO, M. M. F.; ALFENAS, A. C.; XAUZA, E. A. Germinação "in vitro" de urediniosporos de *Puccinia psidii* em diferentes meios-suporte. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 36., 2003, Uberlândia. **Resumos...** Uberlândia: SBF, 2003. p. S205.

DANTAS, G. G.; SILVA, I. D.; SILVA, R. P. da; AGUIAR, A. V.; CUNHA, M. G. Avaliação de extrato de sucupira branca (*Pterodon emarginatus*) sobre a germinação de escleródios e desenvolvimento micelial de *Sclerotium rolfsii*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 36., 2003, Uberlândia. **Resumos...** Uberlândia: SBF, 2003. p. S350.

DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Basic plant pathology methods**. Boca Raton: CRC, 1995. 433 p.

DI STASI, L. C. **Plantas medicinais:** arte e ciência: um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: FUNEP, 1996. 231 p.

EDINGTON, L. V.; KNEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitox spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 62, p. 42-44, jan./fev. 1971.

- GALLETI, S. R.; REZENDE, J. A. Doenças da figueira. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Eds.). **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 3. ed. São Paulo: Ceres, 1997. v. 2, p. 400-405.
- GODOY, C. V.; BERGAMIN FILHO, A.; SALGADO, C. L. M. Doenças do cafeeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Eds.). **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 3. ed. São Paulo: Ceres, 1997. v. 2, p. 184-200.
- IQBAL, M. C. M.; MEIYALAGHAN, S.; WIJESKARA, K. B.; ABEYRATNE, K. P. Antifungal activity from water extracts of some common weeds. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Faisalabad, v. 4, n. 7, p. 843-845, 2001.
- KRUGNER, T. L.; AUER, C. G. Doenças do eucalipto. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Eds.). **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 3. ed. São Paulo: Ceres, 1997. v. 2, p. 358-375.
- MOREIRA, L. M.; MAY-DE-MIO, L. L.; ALDEBENITO-SANHUEZA, R. M.; LIMA, M. L. R. Z.; POSSAMAI, J. C. Controle em pós-colheita de *Monilia fruticola* em pêssegos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 4, p. 295-398, jul. 2002.
- OLIVEIRA, G. B.; CHARTONE-SOUZA, E.; NASCIMENTO, R. M. A.; BRANDÃO, M. G. I. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 26., 2004, Manaus. **Resumos...** Manaus: INPA, 2004. p. 107.
- PÉREZ, J. F. M. **Sistema de manejo para a candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish**. 2001. 71 p. Dissertação (Mestrado em Manejo Ambiental) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.
- PICCININ, E.; PASCHOLATI, S. F. Doenças da goiabeira. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Eds.). **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 3. ed. São Paulo: Ceres, 1997. v. 2, p. 450-455.
- SARFAM Comercial importadora. **Natural L(-) Alpha bisabolol**. São Paulo, 2005. Disponível em: <<http://www.sarfam.com.br/alpha/aplicacion.htm>>. Acesso em: 3 out. 2004.
- TAKATSUKA, F. S.; SILVA, I. D.; OLIVEIRA, M. F.; CZEPAK, C.; OLIVEIRA, C. M. A.; CUNHA, M. G. Efeito do óleo essencial de açafraão (*Curcuma longa*) sobre o desenvolvimento micelial de fungos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 36., 2003, Uberlândia. **Resumos...** Uberlândia: SBF, 2003. p. S361.
- TEIXEIRA, M. C. B.; NUNES, Y. R. F.; MAIA, K. M. P.; RIBEIRO, R. N. Influência da luz na germinação de sementes de candeia (*Vanillosprosis erythropappa* Shuh. Bip). In: ENCONTRO REGIONAL DE BOTANICA, 28., 1996, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: SBB; PUC-MG, 1996. p. 35-41.
- VICHNEWSKI, W.; TAKAHASHI, A. M.; NASI, A. M. T.; RODRIGUES, S. D. C.; GONÇALVES, D. A. D. G.; LOPES, I. N. C.; GOEDKEN, V. L.; GUTIÉRREZ, R. B.; HERZ, W. Sesquiterpene lactones and other constituents from *Eremanthus seidelli*, *E. govazensis* e *I Vanillosmopsis erythropappa*. **Phytochemistry**, Egham Hill, v. 28, n. 1, p. 1441-1451, Jan. 1989.
- WENQIAO, W.; BEN-DANIEL, B.; BEN-DANIEL, Y. Control of plant disease by extracts of *Inula viscosa*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 94, n. 10, p. 1042-1047, Oct. 2004.
- YORINORI, J. T.; PAIVA, W. M.; COSTAMILAN, L. M.; BERTAGNOLLI, P. F. **Ferrugem da soja: identificação e controle**. Londrina: Embrapa Soja, 2003. 25 p. (Documentos, 204).