

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**

**WILSON SOARES FERREIRA**

**ESTUDO DE ÓLEOS ESSENCIAIS EXTRAIDOS DE PLANTAS MEDICINAIS, NO  
CONTROLE DO FUNGO *COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIOIDES* CAUSADOR  
DA DOENÇA ANTRACNOSE NO MAMÃO.**

**VITÓRIA  
2005**

**WILSON SOARES FERREIRA**

**ESTUDO DE ÓLEOS ESSENCIAIS EXTRAIDOS DE PLANTAS MEDICINAIS, NO  
CONTROLE DO FUNGO *COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIOIDES* CAUSADOR  
DA DOENÇA ANTRACNOSE NO MAMÃO.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do curso para obtenção do Grau de Mestre em Biologia Vegetal, na área de concentração em Fisiologia Vegetal.

Orientador: Prof Dr Reginaldo Bezerra dos Santos.

Co-Orientadora: Profa Dra Patrícia Machado Bueno Fernandes.

**VITÓRIA**

**2005**

## FOLHA DE APROVAÇÃO

## **AGRADECIMENTOS**

Ao triuno Deus, por seu amor e por ter provido tudo que eu precisava.

Ao professor Reginaldo Bezerra dos Santos, pela orientação, paciência, por muitas vezes apontar onde eu estava falhando, e pela grande amizade.

A professora Patrícia Machado Bueno Fernandes, por ter sido minha co-orientadora, pela prontidão e clareza nos conhecimentos transmitidos.

A Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, pela oportunidade concedida.

Aos meus amigos Wisley pelas impressões e ao Ângelo pelo auxílio com o computador, a Xênia pelo trabalho de tradução de texto, lembrando também do Breno, Sueli, Fernanda, Andréia e outros não menos importantes, porém tantos são e tantos favores prestados que não caberiam em poucas páginas.

A minha namorada Fabiana pelo seu apoio em todos os momentos com amor, carinhos, incentivos.

A todos os meus familiares em especial ao meu lar constituído pelo meu irmão Wilton, minha mãe Dona Marinete e meu pai Seu Rui, pela paciência que tiveram comigo, pelo amor e pelo companheirismo.

Ao Horto Municipal de Tabuazeiro, especialmente ao engenheiro agrônomo João Batista Bragato, por fornecer as plantas medicinais utilizadas neste trabalho.

Ao Clube de Servidores da UFES, por fornecer as plantas medicinais utilizadas neste trabalho.

Ao Programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal, em especial aos coordenadores e secretários por tudo que fizeram por mim.

Aos professores do curso, pelos ensinamentos transmitidos.

A todos os colegas de curso, que direta ou indiretamente, contribuíram para o cumprimento desta jornada.

A todos os colegas que conheci no laboratório de Química Orgânica pela ajuda nos trabalhos e pela companhia.

A todos os colegas que conheci no laboratório de Bioquímica e Biologia molecular pelo auxílio ao manusear os fungos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela bolsa de estudo.

## RESUMO

O Brasil é o maior produtor de mamão do mundo, sendo o Espírito Santo o segundo maior produtor, primeiro em produtividade e maior exportador do país. O cultivo do mamão é de grande importância social e econômica, por gerar empregos, fixando o homem no campo, por viabilizar muitas propriedades economicamente, além de gerar riqueza ao país. As doenças do mamoeiro trazem perdas econômicas, seja com a queda de produtividade ainda nas lavouras, seja na aceitação do produto pelo mercado consumidor. Dentre as principais doenças em pós-colheita destaca-se a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. Considerando o problema de resíduos de agrotóxicos nos frutos, torna-se importante à investigação de métodos alternativos de controle, com destaque para aqueles que não causem impactos ambientais e não comprometam a saúde dos consumidores. Estudos têm sido realizados com uso de plantas medicinais na agricultura sustentável ou alternativa. Neste trabalho propôs-se estudar quatro espécies de plantas medicinais: *Lippia Alba* (erva-cidreira) *Cymbopogon citratus* (capim-limão) *Cymbopogon nardus* (capim-citronela) e *Aloysia triphylla* (Cidrão). Essas plantas foram cultivadas em dois ambientes distintos, um com adubação e demais tratamentos culturais e outro em que as plantas foram cultivadas naturalmente sem intervenção humana. Extraíram-se, através de destilação por arraste de vapor, os óleos essenciais das folhas destas plantas, em diferentes meses. Através da técnica de cromatografia gasosa identificou-se os principais constituintes químicos. As plantas *L. alba*, *C. citratus* e *A. triphylla* apresentaram o monoterpene citral como o principal constituinte de seus óleos essenciais, já o *C. nardus* apresentou como principal constituinte o monoterpene citronelal. Para a avaliação da atividade fungitóxica os óleos essenciais destas plantas foram realizados testes *in vitro* de inibição do crescimento micelial e da germinação de esporos de *C. gloeosporioides*. Todos os óleos essenciais extraídos demonstraram potencial fungitóxico, pois inibiram com eficiência o crescimento micelial e a germinação de esporos do fungo. Dos meses em que foram feitas extrações dos óleos essenciais, destaca-se o mês de junho, por ter sido o mês em que todas as plantas forneceram maiores quantidades de óleos. A adubação e outros tratamentos culturais não aumentaram a produção de óleos essenciais, quando comparado as plantas cultivadas naturalmente. Dentre as quatro plantas estudadas, a *C. nardus*, apresentou um maior percentual no rendimento de óleo essencial em

todos os meses em que foi coletada, sendo, portanto, indicada a ser cultivada objetivando a extração de compostos terpênicos para o controle da antracnose.

**Palavras-chave:** doenças fúngicas, controle alternativo, plantas medicinais, óleos essenciais, monoterpeno, ambiente de cultivo.

## ABSTRACT

Brazil is the world's greatest papaya producer, being Espírito Santo the second producer of Brazil, first in productivity and the greatest exporting. The papaya's cultivation does matter to social and economic areas, for create jobs, fixing the man in the country, for stimulate many properties economically besides to produce wealthy to country. The papaya's disease brings economic lost, either with fall of productivity or either with the acceptance of the product for the consuming market. Among the principals diseases after-harvest stands out the anthracnose, caused for fungus. Considering the problem of wastes from chemical control in the fruits, becomes important the inquiry of alternative methods of control, with attention to those that do not cause ambient impact and do not harm the consumers' healthy. Studies are being carrying out with the medicinal plants in the alternative agriculture. In this work four species of medicinal plants had been considered: *Lippia Alba* (erva-cidreira), *Cymbopogon citratus* (capim-limão), *Cymbopogon nardus* (capim-citronela) e *Aloysia triphylla* (cidrão). These plants were cultivated in two different enviromment, one of them with fertilization and others care's cultivation, while the other in which plants were cultivation naturally, without human intervention. It was extracted, through distillation of drags of vapor, the essential oils from leafs of these plants, in different months. Through of chromatography gas technique that identified the main chemical components of these oils essential. The plants *L. alba*, *C. citratus* e *A. triphylla* had presented the monoterpene citral as the principal component of them essential oils, while the *C. nardus* presented as the principal component of its essential oil, the monoterpene citronelal. To assessment of fungicidal activity from essentials oils of these plants, were realized tests in vitro of inhibition of mycelia growth and the germination of conidia. All the extracted essential oils of these plants in study, demonstrated fungicidal potential, because they had inhibited efficiently the mycelia growth and the germination of conidia from fungi. Among the months where the extractions had been made stands out the month of June, for have been the month in which all the plants had supplied to greater amounts of essentials oils. The fertilization and others cares' cultivation did not increase the production of oils, the comparative production when the plants were cultivated naturally. Among the four plants studied, a *C. nardus*, presented a percentile greater in the essential oil

production in every month that it was collected, being therefore indicated to be cultivated objectifying these essential oils for the control of anthracnose.

**Keyword:** disease fungal, alternative control, medicinal plants, essential oil, monoterpene, environment crop.



## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Esquema simplificado das rotas biossintéticas para produção de compostos fenólicos, isoprenóides e alcalóides.....	21
Esquema 2 – Proposta para a formação de derivados do acetato.....	22
Esquema 3 – Biossíntese do ácido mevalônico e das unidades de isopreno.....	25
Esquema 4 – Combinação de unidades isoprênicas para formação de terpenos.	26

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura do isopreno.....	23
Figura 2 – Aspecto geral da planta Erva Cidreira.....	29
Figura 3 – Detalhe dos ramos da planta Erva Cidreira.....	29
Figura 4 – Aspecto geral da planta de Cidrão .....	31
Figura 5 – Detalhe das folhas de Cidrão.....	31
Figura 6 - Aspecto geral da planta de Capim Cidreira.....	32
Figura 7 – Aspecto geral da planta de Capim Citronela.....	33
Figura 8 – Lesão característica da doença Antracnose ( <i>C. gloeosporioides</i> ).....	38
Figura 9 – Sistema de extração de óleos essenciais.....	42
Figura 10 – Esquema de um cromatógrafo a gás.....	44
Figura 11 – Representação esquemática do teste de inibição <i>in vitro</i> , determinado pelo halo formado ao redor do disco de cada um dos tratamentos.....	47
Figura 12 – Rendimentos percentuais de óleo essencial produzido pela <i>C.</i> <i>nardus</i> , em diferentes meses.....	52
Figura 13 – Rendimentos percentuais de óleo essencial produzido pela <i>C.</i> <i>citratu</i> s, em diferentes meses.....	53
Figura 14 – Rendimentos percentuais de óleo essencial produzido pela <i>L. Alba</i> , em diferentes meses.....	53
Figura 15 – Rendimentos percentuais de óleo essencial produzido pela <i>A.</i> <i>triphyl</i> la, em diferentes meses.....	54
Figura 16 – Cromatograma de uma amostra do óleo essencial da <i>A. triphyl</i> la.....	58
Figura 17 – Cromatograma de uma amostra do óleo essencial da <i>L. alba</i> .....	58
Figura 18 – Cromatograma de uma amostra do óleo essencial da <i>C. citratu</i> s.....	59
Figura 19 – Cromatograma de uma amostra do óleo essencial da <i>C. nardu</i> s.....	59
Figura 20 – Fotos das placas utilizadas nos testes de inibição do crescimento micelial.....	61
Figura 21 – Fotomicrografia de conídios germinados e não germinados.....	63

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Rendimento percentual dos óleos essenciais, extraídos de 20 gramas de folhas, das quatro plantas em estudos, bem como, local e mês do ano de 2004 em que ocorreu a coleta das plantas.....	50
Quadro 2 – Estruturas dos monoterpenos encontrados nos óleos das plantas estudadas.....	55
Quadro 3 – Porcentagens dos monoterpenos presentes em maior concentração, no óleo essencial extraído da planta <i>A. triphylla</i> , e comparação com dados da literatura.....	56
Quadro 4 – Porcentagens dos monoterpenos presentes em maior concentração, no óleo essencial extraído da planta <i>C. nardus</i> , e comparação com dados da literatura.....	56
Quadro 5 – Porcentagens dos monoterpenos presentes em maior concentração, no óleo essencial extraído da planta <i>L. alba</i> , e comparação com dados da literatura.....	57
Quadro 6 – Porcentagens dos monoterpenos presentes em maior concentração, no óleo essencial extraído da planta <i>C. citratus</i> , e comparação com dados da literatura.....	57
Quadro 7 – Porcentagem de inibição do crescimento micelial do fungo <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , em contato com os óleos essenciais extraídos das plantas, diluídos a 20, 40 e 50% em etanol.....	61
Quadro 8 – Porcentagem de inibição da germinação dos conídios do fungo <i>C. gloeosporioides</i> , em contato com os óleos essências diluídos a 20, 40 e 50% em etanol.....	62

## SUMÁRIO

RESUMO.....	
ABSTRACT.....	
LISTA DE ESQUEMAS.....	
LISTA DE FIGURAS.....	
LISTA DE QUADROS.....	
SUMÁRIO.....	
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVOS.....	16
2.1. Objetivos gerais.....	16
2.2. Objetivos específicos.....	16
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
3.1. Óleo essencial.....	17
3.2. Metabólitos primários e secundários.....	17
3.2.1. Ecologia química.....	20
3.2.2. Natureza dos metabólitos secundários: métodos de isolamento, identificação e propostas de biossíntese. ....	20
3.2.2.1. Metabólitos derivados do acetato.....	22
3.2.2.1.1. Metabólitos derivados do mevalonato: isoprenóides.....	23
3.2.2.2. Metabólitos derivados do ácido chiquímico.....	27
3.2.2.3. Metabólitos derivados dos aminoácidos.....	28
3.2.2.4. Metabolismo de origem biossintética mista.....	28
3.3. Plantas medicinais utilizadas neste trabalho.....	28
3.3.1. Erva Cidreira ( <i>Lippia alba</i> ).....	28
3.3.2. Cidrão ( <i>Aloysia triphylla</i> ).....	30
3.3.3. Capim-Cidreira ( <i>Cymbopogon citratus</i> ).....	31
3.3.4. Capim Citronela ( <i>Cymbopogon nardus</i> ).....	32
3.3.5. Ordem e família botânica das plantas utilizadas.....	34
3.4. Plantas medicinais.....	34
3.5. Mamoeiro.....	35
3.6. Antracnose.....	36
3.6.1. Sintomas da antracnose.....	36
3.6.2. Manejo preventivo para o controle da doença.....	37

4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
4.1 Plantas medicinais utilizadas.....	40
4.2. Aquisição das plantas.....	40
4.3. Processo de extração dos óleos essenciais.....	41
4.3.1. Destilação por arraste de vapor utilizando aparato de Clevenger.....	41
4.3.2. Coleta do óleo essencial extraído e secagem do solvente.....	41
4.3.3. Extração por solvente do óleo presente na solução aquosa.....	43
4.4. Análise cromatográfica.....	43
4.4.1. Preparação da amostra para injeção.....	46
4.5. Obtenção e manutenção do fungo.....	46
4.6. Meios de cultura.....	46
4.7. Teste da atividade fungitóxica dos óleos essenciais na inibição do crescimento micelial e da germinação de conídios do fungo <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> .....	47
4.7.1. Teste do halo.....	47
4.7.2. Teste quantitativo: determinação do volume mínimo de óleo essencial a ser utilizado para inibir o crescimento do fungo.....	48
4.7.3. Teste de inibição do crescimento micelial.....	48
4.7.4. Teste de inibição da germinação de conídios.....	48
4.8. Análise estatística.....	49
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	50
5.1. Rendimentos dos óleos essenciais extraídos das plantas.....	50
5.2. Identificação dos principais constituintes presentes nos óleos essenciais das plantas em estudo.....	55
5.3. Inibição do crescimento micelial e da germinação de conídios do fungo <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> pelos óleos essenciais.....	60
5.3.1. Teste do halo.....	60
5.3.2. Teste quantitativo: determinação do volume mínimo de óleo essencial a ser utilizado para inibir o crescimento do fungo.....	60
5.3.3. Teste de inibição do crescimento micelial do fungo.....	60
5.4.4. Teste de inibição da germinação de conídios.....	62
6. CONCLUSÃO.....	64
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65