

Atividade da Antifúngica do Óleo Essencial
de *Tagetes minuta* sobre *Puccinia psidii*



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Clima Temperado
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
312**

**Atividade da Antifúngica do Óleo Essencial
de *Tagetes minuta* sobre *Puccinia psidii***

*Gabriela Xavier Giacomini
Daniela Pimentel Rodriguez
Glaucia de Figueiredo Nachtigal
Ricardo Alexandre Valgas
Gustavo Schiedeck
Daniel Lopes de Lima*

**Embrapa Clima Temperado
Pelotas, RS
2018**

Embrapa Clima Temperado
BR 392 km 78 - Caixa Postal 403
CEP 96010-971, Pelotas, RS
Fone: (53) 3275-8100
www.embrapa.br/clima-temperado
www.embrapa.br/fale-conosco

Comitê Local de Publicações

Presidente
Ana Cristina Richter Krolow

Vice-Presidente
Enio Egon Sosinski

Secretário-Executivo
Bárbara Chevallier Cosenza

Membros
*Ana Luiza B. Viegas, Fernando Jackson,
Marilaine Schaun Pelufê, Sonia Desimon*

Revisão de texto
Bárbara Chevallier Cosenza

Normalização bibliográfica
Marilaine Schaun Pelufê

Editoração eletrônica
Fernando Jackson

Foto da capa
Paulo Lanzetta

1ª edição
Obra digitalizada (2018)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Clima Temperado

A872 Atividade antifúngica do óleo essencial de *Tagetes*
minuta sobre *Puccinia psidii* / Gabriela Xavier
Giacomini... [et al.]. – Pelotas: Embrapa Clima
Temperado, 2018.
15 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento /
Embrapa Clima Temperado, ISSN 1678-2518 ; 312)

1. Goiaba. 2. Ferrugem. 3. Óleo essencial.
4. Toxidez. I. Giacomini, Gabriela Xavier. II. Série.

CDD 634.421

Sumário

Introdução.....8

Material e Métodos.....9

Resultados e Discussão 11

Conclusões.....13

Referências14

Atividade da Antifúngica do Óleo Essencial de *Tagetes minuta* sobre *Puccinia psidii*

Gabriela Xavier Giacomini¹

Daniela Pimentel Rodriguez²

Glaucia de Figueiredo Nachtigal³

Ricardo Alexandre Valgas⁴

Gustavo Schiedeck⁵

Daniel Lopes de Lima⁶

Resumo – A ferrugem, causada pelo fungo *Puccinia psidii*, é uma das principais doenças fúngicas da goiabeira, por afetar tecidos jovens em desenvolvimento, tais como folhas, botões florais, frutos e ramos. Sob condições favoráveis, a doença causa grande abortamento de flores e queda de frutos em desenvolvimento, com reflexos diretos na produtividade. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o óleo essencial de *Tagetes minuta* quanto ao potencial fungitóxico a *P. psidii*, expresso pela interferência na esporulação do patógeno. O potencial de toxicidade do óleo essencial de *T. minuta*, na concentração 1% (v/v), sobre a germinação e o crescimento do tubo germinativo de *P. psidii*, foi determinado com base em ensaio conduzido in vitro. Os dados foram comparados em relação à testemunha pelo teste de comparação de duas proporções (Teste Z) no nível de 5% de significância. Os dados obtidos comprovam que o óleo essencial de *T. minuta*, particularmente de suas flores e folhas, que são enriquecidas com cis-beta-ocimeno, trans-tagetone e dihydro-tagetone, apresenta, in vitro, potencial antifúngico sobre *Puccinia psidii* na concentração de 1% (v/v). A nível prático, a alta volatilidade de seus componentes se constitui em obstáculo para a recomendação de uso

¹ Gestora ambiental, mestre em Química, doutoranda em Química, Universidade Federal de Pelotas, RS.

² Bióloga, mestre em Fitossanidade, doutoranda em Sistemas de Produção Agrícola Familiar, Universidade Federal de Pelotas, RS.

³ Agrônoma, doutora em Agronomia, pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

⁴ Estatístico, mestre em Métodos Numéricos em Engenharia, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

⁵ Agrônomo, doutor em Agronomia, pesquisador na Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

⁶ Biólogo, mestre em Fitossanidade, assistente da Embrapa Clima Temperado Pelotas, RS.

do óleo essencial diluído para manejo da ferrugem em goiabeira. Formulação apropriada, capaz de aprisionar os componentes voláteis fitotóxicos, ainda que desejável, não encontra-se disponível aos agricultores interessados no manejo alternativo da ferrugem da goiabeira.

Termos para indexação: controle alternativo, ferrugem da goiabeira.

Antifungal Activity of *Tagetes minuta* Essential Oil on *Puccinia psidii*

Abstract – Rust caused by the fungus *Puccinia psidii* is one of the major fungal diseases of guava because it affects young developing tissues such as leaves, flower buds, fruits and branches. Under favorable conditions, the disease causes large flower abortion and fruit drop in development, with direct effects on productivity. The objective of the present work was to evaluate the essential oil of *Tagetes minuta* according to its fungitoxic potential to control *P. psidii*, expressed by interference in the sporulation of the pathogen. The toxicity potential of 1% (v/v) *T. minuta* essential oil on germination and growth of the *P. psidii* germ tube was determined on the basis of an in vitro assay. The data were compared to the control by the two-proportion comparison test (Z-test) at 5% of level of significance. The data obtained show that the essential oil of *T. minuta*, particularly of its flowers and leaves, which are enriched with cis-beta-ocimene, trans-tagetone and dihydro-tagetone, has antifungal potential on *Puccinia psidii* in the concentration of 1% (v/v) in vitro. At the practical level, the high volatility of its components constitutes an obstacle for recommending the use of the diluted essential oil to manage guava rust. Appropriate formulation, capable of capturing volatile phytotoxic components, even if desirable, is not available to farmers interested in the alternative management of guava rust.

Index terms: alternative control, guava rust.

Introdução

O Brasil é o terceiro maior produtor de frutas no mundo, ficando atrás apenas de China e Índia, o que mostra a relevância do setor para a economia brasileira (Sebrae, 2018).

A fruticultura, com destaque para a goiabeira, tem representado uma das principais atividades econômicas para muitas propriedades agrícolas de municípios do Rio Grande do Sul, com reflexos diretos na produtividade.

A ferrugem, causada pelo fungo *Puccinia psidii*, é uma das principais doenças fúngicas da goiabeira (Piccinin; Pascholati, 2005). Esse patógeno afeta tecidos jovens em desenvolvimento, tais como folhas, botões florais, frutos e ramos. Sob condições favoráveis, a doença causa grande abortoamento de flores e queda de frutos em desenvolvimento, com reflexos diretos na produtividade. Dependendo da severidade da doença, as perdas podem chegar de 80% a 100% (Goes et al., 2004).

O uso de substâncias bioativas, tais como os óleos essenciais para o manejo de doenças fúngicas, tem se mostrado promissor (Cornelius; Wycliffe, 2016). Isso se deve, primariamente, pelo fato dos óleos essenciais serem facilmente extraídos, biodegradáveis e facilmente catabolisados no ambiente (Zyglado; Grow, 1995), e possuírem baixa ou nenhuma toxicidade contra peixes, pássaros e mamíferos (Enan et al., 1998). A exploração da bioatividade antimicrobiana e/ou estimulante de defesa a partir de compostos secundários, presentes em óleos essenciais de plantas, constitui-se em mais uma forma potencial para o manejo de doenças de plantas (Carvalho et al., 2008).

Tagetes minuta é uma planta nativa das Américas (Cornelius; Wycliffe, 2016), conhecida popularmente na região sul do Brasil como chinchilho. Tem sido utilizada na medicina popular devido à sua atividade antimicrobiana, anti-helmíntica, diurética e antiespasmódica (Tereschuk et al., 1997). O óleo essencial de *Tagetes minuta* apresenta forte atividade fungitóxica a *Colletotrichum gloeosporioides*, agente etiológico da antracnose em maracujá e goiabeira, equivalente àquela proporcionada pelo princípio ativo registrado para o controle do patógeno em maracujá (Giacomini et al., 2013). Assim sendo, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o óleo essencial de *T. minuta* quanto ao potencial fungitóxico a *P. psidii*, expresso pela interferência na esporulação do patógeno.

Material e Métodos

Origem e manutenção do microrganismo

O isolado *P. psidii* empregado neste trabalho é proveniente do isolamento a partir de frutos e folhas de goiabeira, oriundos da região Sul (Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata, município de Pelotas, RS) com sintomas típicos de ferrugem.

Obtenção do óleo essencial de *Tagetes minuta*

O material botânico de *T. minuta* foi oriundo de áreas cultivadas na Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, nas coordenadas geográficas 31° 37' 14.0"S 52° 31' 41.8"W, no município de Pelotas, RS.

Para a obtenção do óleo essencial, foram utilizados aproximadamente 13 Kg de folhas e flores recém-colhidas, e a extração foi realizada pelo método de hidrodestilação por arraste com vapor d'água, em equipamento semi-industrial.

O material vegetal, previamente fragmentado e limpo, foi depositado sobre tela fixada acima do reservatório de água que se encontra no fundo do equipamento, a fim de evitar o contato direto entre o material vegetal e a água. Por meio de aquecimento, a água, no estado de vapor, permeou o material vegetal, arrastando os componentes voláteis até o condensador, onde se deu o resfriamento para obtenção do estado líquido do óleo essencial e do hidrolato. Ao final do processo de extração, procedeu-se à centrifugação para separação dos líquidos imiscíveis e obtenção de 80 mL de óleo essencial, que foi armazenado em recipiente de vidro âmbar e conservado em freezer, a -19 °C, até a sua utilização.

Caracterização química do óleo essencial de *Tagetes minuta*

As análises foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais, da Embrapa Agroindústria Tropical. Os componentes do óleo essencial de *T. minuta* foram identificados por cromatografia gasosa com

detector por Ionização de chama, CG-FID Shimadzu, usando-se o índice de Kováts (IK), sendo identificado um total de 15 compostos.

Avaliação do potencial fungitóxico do óleo essencial de *T. minuta* sobre a germinação de uredósporos de *P. psidii*

O potencial de toxicidade do óleo essencial de *T. minuta*, na concentração 1% (v/v), sobre a germinação e o crescimento do tubo germinativo de *P. psidii* foi determinado com base em ensaio conduzido in vitro. Inicialmente, procedeu-se à deposição de alíquotas de 100 µL do tratamento na superfície de meio de cultura ágar/água, solidificado em placas de petri de 9 cm de diâmetro, com posterior distribuição uniforme, com o auxílio de uma alça de Drigalsk (Seixas et al., 2011). Para avaliar a germinação e o crescimento do tubo germinativo de *P. psidii*, uredósporos recém-coletados de folhas e frutos de goiabeira foram suspensos em água estéril. A suspensão fúngica foi ajustada em 1×10^5 uredósporos por mililitro em câmara de Neubauer (Ruiz et al., 1991). Alíquota de 50 µL da suspensão foi distribuída sobre o meio de cultura acrescido do óleo essencial de *T. minuta*, com posterior distribuição uniforme por meio de alça de Drigalsk. Como testemunha, foi utilizado meio ágar-água sem incorporação do óleo essencial. Foram empregadas três repetições por tratamento (Pizetta et al., 2016). Após a absorção total da parte líquida da suspensão no meio ágar-água, as placas foram vedadas e acondicionadas em BOD, na ausência de fotoperíodo e sob temperatura de 21°C, a fim de proporcionar a germinação dos uredósporos.

A avaliação foi realizada em microscópio óptico com aumento de 100x, observando-se a ocorrência ou não da germinação e o crescimento do tubo germinativo produzido a partir dos uredósporos, após 12 horas de incubação. As avaliações foram efetuadas em quatro eixos ortogonais da placa de petri, no sentido horário. Foram considerados germinados os uredósporos que apresentaram crescimento do tubo germinativo igual ou superior a seu próprio tamanho. Os dados foram comparados em relação à testemunha pelo teste de comparação de duas proporções (Teste Z) no nível de 5% de significância.

Resultados e Discussão

Uredósporos (Figura 1) expostos por 12 horas ao óleo essencial de *T. minuta* a 1% (v/v) resultaram em redução no índice de germinação, da ordem de 50%, em relação ao tratamento testemunha (Tabela 1), indicando a possibilidade de redução da incidência de ferrugem em plantas de goiabeira. Há de se considerar, porém, que, sob condição de campo, a aplicação de óleo essencial a 1% (v/v), para garantir a fungitoxicidade ao patógeno, pode ser impeditiva, ao se considerar a alta volatilidade de seus componentes (Tabela 2), sendo necessárias tecnologias de aprisionamento do óleo essencial, a exemplo da incorporação em matrizes poliméricas.

Tabela 1. Efeito do óleo essencial de *T. minuta* a 1% (v/v) sobre a germinação média de uredósporos *P. psidii*

Tratamentos	n amostral	uredósporos germinados	p* (%)
Testemunha	2.361	573	0,242694
Óleo essencial <i>T. minuta</i> 1%	1.742	285	0,163605

Proporções diferem estatisticamente entre si, no nível de 5% de probabilidade, pelo Teste Z.

A natureza dos princípios inibitórios envolvidos na atividade antimicrobiana a *P. psidii* é ainda desconhecida, embora a análise do óleo essencial empregado neste trabalho tenha indicado a presença de *trans*-tagetona, di-hidrotagetona e *cis*-beta-ocimeno (Tabela 2) como compostos majoritários, contribuindo para mais de 88% da composição volátil total identificada, em conformidade com dados apresentados por Senatore et al. (2004) para óleo essencial dessa espécie na África do Sul.

Estudos anteriores, conduzidos com *T. minuta*, têm indicado que a composição do extrato volátil varia de acordo com o local de coleta. Na Argentina, di-hidrotagetona, α -felandreno, limoneno, ocimeno, tagetona e tageteno-na foram os constituintes majoritários (Gil et al., 2000), enquanto na Arábia Saudita a análise de cromatografia gasosa confirmou a presença de tagetona (11,52%) e 2,7-dimetil-5-4-octanona (11,52%) como principais componentes, e com quantidades menores de 1-acetoxi-3-*p*-mentano (0,17%) e (Z)-9-octacenamida (0,48%) (El-Deeb et al., 2004).

Relatos quanto à exploração da atividade inibitória dos diversos componentes do óleo essencial de *T. minuta* são, ainda, pouco documentados. Senatore et al. (2004) relataram baixos valores de concentração inibitória a

Bacillus cereus, *B. subtilis*, *Salmonella typhi* e *Streptococcus faecalis* para óleo essencial oriundo da África do Sul e sugeriu que dihidrotagetona, tagetonas e ocimenonas foram os principais responsáveis para a atividade antimicrobiana. A ação antifúngica detectada, por outro lado, pode não ser atribuída a uma única substância da fração volátil, mesmo se muito abundante no óleo, conforme evidenciado por Romagnoli et al. (2005) para óleo essencial de *Tagetes patula*.

Foto: Gabriela Xavier Giacomini



Figura 1. Uredósporos de *Puccinia psidii* com emissão de tubo germinativo no tratamento testemunha.

Tabela 2. Componentes majoritários do óleo essencial de *Tagetes minuta*

Componente*	IK _{lit} **	Área	Área (%)	Fórmula molecular
ethyl 2-methylbutyrate	842	904	0,02	C ₇ H ₁₄ O ₂
Sabineno	975	22.805	0,54	C ₁₀ H ₁₆
Octanal	998	11.041	0,26	C ₁₀ H ₁₆
alfa-felandreno	1002	11.626	0,27	C ₈ H ₁₆ O
Limoneno	1029	171.668	4,04	C ₁₀ H ₁₆
cis-beta-ocimeno	1037	1.469.182	34,61	C ₁₀ H ₁₆
trans-beta-ocimeno	1050	16.057	0,38	C ₁₀ H ₁₆
dihydro-tagetone	1052	479.009	11,28	C ₁₀ H ₁₈ O
cis-tagetone	1144	164.988	3,89	C ₁₀ H ₁₆ O
trans-tagetone	1152	1.825.976	43,02	C ₁₀ H ₁₆ O
trans-ocimenone	1238	8.770	0,21	C ₁₀ H ₁₄ O
7-epi-silphiperfol-5-ene	1348	10.863	0,26	C ₁₅ H ₂₄
beta-cariofileno	1419	15.371	0,36	C ₁₅ H ₂₄
alfa-cariofileno	1454	13.628	0,32	C ₁₅ H ₂₄
biciclogermacreno	1500	22.972	0,54	C ₁₅ H ₂₄

*Componentes do óleo essencial de *T. minuta*, identificados por cromatografia gasosa com detector por ionização de chama, CG-FID Shimadzu.

** Índice de Kovats teórico

Conclusões

Os dados obtidos comprovam que o óleo essencial de *T. minuta*, particularmente de suas flores e folhas, que são enriquecidas com cis-beta-ocimeno, trans-tagetone e dihydro-tagetone, apresenta, in vitro, potencial antifúngico a *Puccinia psidii* na concentração de 1% (v/v). Na prática, a alta volatilidade de seus componentes se constitui em obstáculo para a recomendação de uso do óleo essencial diluído para manejo da ferrugem em goiabeira. Formulação apropriada, capaz de aprisionar os componentes voláteis fitotóxicos, ainda que desejável, não encontra-se disponível aos agricultores interessados no manejo alternativo da ferrugem da goiabeira.

Referências

- CARVALHO, J. B.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; BONALDO, S. M.; CRUZ, M. E. S.; CARLOS, M. M.; STANGARLIN, J. R. Fungitoxicidade de *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon martinii* a *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de pimentão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 10, n. 1, p. 88-93, 2008.
- CORNELIUS, W. W.; WYCLIFFE, W. *Tagetes (Tagetes minuta)* oils. In: PREEDY, V. R. (Ed.). *Essential oils in food preservation, flavor and safety*. Cambridge: Academic Press, 2016. p. 791-802.
- EL-DEEB, S. K.; MOSS, J. S.; ABBAS, F. A. Chemical composition of the essential oil of *Tagetes minuta* growing in Saudi Arabia. **Journal Saudi Pharmaceutical**, v. 12, p. 51-53, 2004.
- ENAN, E.; BEIGLER, M.; KENDE, A. Insecticidal action of terpenes and phenols to cockroaches: effect on octopamine receptors. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON PLANT PROTECTION. **Proceedings...** Gent, Belgium, 1998.
- GIACOMINI, G. X.; NACHTIGAL, G. F.; SCHIEDECK, G.; VALGAS, R. A.; GIACOMINI, R.; X.; LIMA, D. L. Atividade fitotóxica de extratos aquosos e óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. & Sacc. **Cadernos de Agroecologia**, v. 8, p. 1-5, 2013.
- GIL, A.; GHERSA, B. C. M.; LEICACH, C. S. Essential oil yield and composition of *Tagetes minuta* accessions from Argentina. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 28, p. 261-274, 2000.
- GOES, A.; MARTINS, R. D.; REIS, R. F. Efeito de fungicidas cúpricos, aplicados isoladamente ou em combinação com mancozeb, na expressão de sintomas de fitotoxicidade e controle da ferrugem causada por *Puccinia psidii* em goiabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 2, p. 237-240, 2004.
- PICCININ, E.; PASCHOLATI, S. F. Doenças da goiabeira. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, p. 401-406.
- PIZETTA, M.; PIEROZZI, C. G.; PEREIRA, G. V. N.; CRUZ, J. C. S.; APARECIDO, C. C.; PASSADOR, M. M.; FURTADO, E. L. Estudos de três meios de cultura axênico para a ferrugem das mirtáceas. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 2, p. 165-169, abr./jun. 2016.
- ROMAGNOLI, C.; BRUNI, R.; ANDREOTTI, E.; RAI, M.K.; VICENTINI, C.B.; MARES, D. Chemical characterization and antifungal activity of essential oil of capitula from wild Indian *Tagetes patula* L. **Protoplasma**, v. 225, p. 57-65, 2005.
- RUIZ, R. A. R.; ALFENAS, A. C.; DEMUNER, N. L. Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem (*Puccinia psidii*) em goiabeira (*Psidium guajava*). **Summa Phytopathologica**, v. 17, p. 147-153, 1991.
- SEBRAE (Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas). Mercado de fruticultura: panorama do setor no Brasil. **Boletim de inteligência**. out. 2015. Disponível em: <http://www.sebraemercados.com.br/mercado-de-frutas-no-brasil/> Acesso em: 12 set. 2018.
- SEIXAS, P. T. L.; CASTRO, H. C.; SANTOS, G. R.; CARDOSO, D. P. Controle fitopatológico do *Fusarium subglutinans* pelo óleo essencial do capim-citronela (*Cymbopogon nardus* L.) e do composto citronelal. **Revista Brasileira Planta Medicinal**, v. 13, p. 523-526, 2011.

SENATORE, F.; NAPOLITANO, F.; MOHAMED, M. A-H.; HARRIS, P. J. C.; MNKENI, P. N. S.; HENDERSON, J. Antibacterial activity of *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) essential oil with different chemical composition. **Journal Flavour and Fragrance**, v. 19, p. 574–578, 2004.

TERESCHUK, M. L.; RIERA, M. V.; CASTRO, G. R.; ABDALA, L. R. Antimicrobial activity of flavonoids from leaves of *Tagetes minuta*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 56, p. 227-232, 1997.

ZYGLADO, J. A.; GROW, N. R. *Comparative study of the antifungal activity of essential oils from aromatic plants growing wild in the central region of Argentina*. **Journal of Flavour and Fragrance**, v. 10, p. 113-118, 1995.

