

1 **Atividade antifúngica do eugenol no controle de fungos fitopatogênicos**  
2 **Gabrieli M. dos Santos<sup>1</sup>; Tamiris A. de Carvalho<sup>1</sup>; Regina H. Marino<sup>1</sup>**

3 <sup>1</sup> UFS – Universidade Federal de Sergipe- Av. Marechal Rondon s/n, 49100-000 – São Cristóvão - SE.  
4 [gabrieliagro@gmail.com](mailto:gabrieliagro@gmail.com), [tamiriscarvalho12@gmail.com](mailto:tamiriscarvalho12@gmail.com) e [rehmarino@hotmail.com](mailto:rehmarino@hotmail.com)

5  
6 **RESUMO**

7 Os óleos essenciais de algumas espécies de plantas tem atividade antifúngica e podem  
8 ser utilizados no controle de fungos fitopatogênicos. Este estudo teve como objetivo  
9 avaliar o efeito das concentrações de eugenol no controle de *Fusarium* sp. e *Alternaria*  
10 sp., *in vitro*. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, no  
11 esquema fatorial de 2 x 4 (isolados fúngicos x concentração de eugenol), com cinco  
12 repetições. As concentrações testadas de eugenol foram 0, 2, 4 e 8%, em meio de  
13 cultura BDA. Os parâmetros avaliados foram o diâmetro do crescimento micelial,  
14 diâmetro da hifa e o número de esporos. O eugenol reduziu o crescimento micelial, o  
15 diâmetro da hifa e a esporulação de *Fusarium* e *Alternaria*, em todas as concentrações  
16 testadas.

17 **PALAVRAS-CHAVE:** Controle alternativo, biofungicidas, óleo essencial.

18 **ABSTRACT**

19 **Antifungal activity of the eugenol to control of phytopathogenic fungi**

20 Essential oils from several plant species have antifungal activity and could be used for  
21 controlling of the phytopathogenic fungi. This study aimed at evaluating the effect of  
22 eugenol concentrations on the control of *Fusarium* sp. and *Alternaria* sp., *in vitro*. A  
23 complete randomized design, in a 2 x 4 factorial scheme (fungus isolates x  
24 concentrations of eugenol), with five replications, was used. The concentrations of  
25 eugenol utilized were 0, 2, 4 e 8%, in medium PDA. The diameter of mycelial growth,  
26 diameter of hyphae and number of spores were evaluated. The eugenol reduced of  
27 mycelium growth, diameter of hyphae and sporulation of the *Fusarium* and *Alternaria*,  
28 in the all concentrations tested.

29 **Keywords:** Alternative control, biofungicides, essential oil.

### 33 **INTRODUÇÃO**

34 Em pós-colheita ocorrem perdas de alimentos devido ao ataque de  
35 microrganismos, tais como fungos, bactérias e em menor extensão por vírus, o que  
36 compromete a qualidade dos produtos perecíveis. As doenças de pós-colheita inicia-se  
37 com uma infecção inicial causada por um ou mais patógenos, que pode potencializar  
38 uma infecção secundária, por microrganismos saprófitas não específicos (CHITARRA e  
39 CHITARRA, 2005).

40 Em hortaliças, como no caso do tomateiro, há cerca de 200 doenças que podem  
41 limitar sua produção e afetar a qualidade dos frutos a serem comercializados. Dentre os  
42 principais patógenos que causam danos nesta cultura tem-se o fungo causado da pinta  
43 preta (*Alternaria solani*) e o *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, principalmente, no  
44 Nordeste brasileiro (SILVA *et al.*, 2012; BALBI-PEÑA *et al.*, 2006).

45 Diversos métodos de controle têm sido utilizados no controle das principais  
46 doenças fúngicas do tomateiro. Neste contexto, o emprego de extratos e óleos essenciais  
47 vem sendo relatado como um método alternativo e eficaz no controle de agentes  
48 fitopatogênicos (SANTOS *et al.*, 2007; PEDROSO *et al.*, 2009)

49 A espécie vegetal *Syzygium aromaticum*, conhecida popularmente como cravo-  
50 da-índia, pertence à família das Mirtaceae, cujo óleo essencial apresenta elevado teor de  
51 eugenol (seu composto majoritário), sendo empregado na indústria farmacêutica, devido  
52 sua ação antiviral, bactericida e fungicida.

53 O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do composto majoritário do óleo  
54 essencial de cravo, o eugenol, no crescimento micelial e na esporulação do *Fusarium* sp.  
55 e *Alternaria* sp., “in vitro”.

56

### 57 **MATERIAL E MÉTODOS**

58 O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, no esquema  
59 fatorial de 2 x 4, sendo dois isolados fúngicos (*Fusarium* sp. e *Alternaria* sp) e quatro  
60 concentrações de eugenol (0, 2, 4 e 8%), com cinco repetições. Para tanto, o eugenol  
61 foi distribuído sobre a superfície do meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA)  
62 autoclavado e solidificado, com auxílio de alça de Drigalski. Em seguida, foi transferido  
63 um disco micelial de 6 mm de diâmetro, com a parte micelial voltada para o meio de

64 cultura, no centro da placa de Petri. A incubação foi realizada em BOD por cinco dias à  
65 temperatura média de  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ , com fotoperíodo de 12 horas.

66 Os parâmetros avaliados foram: o diâmetro médio da colônia (DM), a  
67 porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC), o diâmetro das hifas e o número  
68 de esporos.

69 O diâmetro médio da colônia foi determinado pela média do comprimento do  
70 crescimento micelial de dois eixos ortogonais obtidos com auxílio de uma régua  
71 milimetrada. A porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) foi calculada  
72 pela fórmula:

$$73 \text{ PIC (\%)} = \frac{(\text{diâmetro da testemunha} - \text{diâmetro do tratamento})}{\text{diâmetro da testemunha}} \times 100$$

74 O número de esporos e o diâmetro das hifas foram avaliados ao microscópio  
75 ótico, com corante azul de metileno.

76 Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância sendo que os  
77 tratamentos em que a média apresentou diferença significativa foram aplicado o teste de  
78 Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa ASSISTAT (SILVA e  
79 AZEVEDO, 2002).

80

## 81 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

82 O emprego eugenol reduziu de forma significativa o diâmetro do crescimento  
83 micelial dos isolados fúngicos de *Fusarium* sp. e de *Alternaria* sp., em todas as  
84 concentrações testadas. Entretanto, para *Fusarium* sp., a porcentagem de inibição do  
85 crescimento micelial (PIC) foi de 100% a partir da concentração de 4% e para  
86 *Alternaria* sp. a partir de 2% (Tabela 1).

87 A inibição do crescimento micelial na presença de eugenol também foi citada  
88 por Costa *et al.* (2011), para os fungos *Rhizoctonia solani* e *Macrophomina phaseolina*.

89 Neste experimento também foi observado que o eugenol influenciou  
90 negativamente no diâmetro das hifas a partir de 8% para *Fusarium* sp. e a 4% para  
91 *Alternaria* sp., bem como causou a formação de hifas desuniformes (Tabela 1).

92 Costa *et al.* (2011) relataram que o eugenol altera a permeabilidade da  
93 membrana, por interagir com os lipídeos, resultando em ruptura da célula. Já as  
94 deformações nas hifas podem estar correlacionadas à geração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e de  $\text{Ca}^{2+}$  livre no  
95 citoplasma, os quais alteram a permeabilidade e a desestabilização e ruptura da

96 membrana, além de poder aumentar o vacúolo ou reduzir do diâmetro das hifas (WANG  
97 *et al.*, 2010).

98 Da mesma forma, Park *et al.* (2007) e Xu *et al.* (2014) relataram que a atividade  
99 antifúngica do eugenol se deve às alterações na estrutura fúngica, pela expansão do  
100 retículo endoplasmático próximo das membranas celulares; pela destruição parcial das  
101 membranas mitocondriais e pela destruição completa da parede celular.

102 Na esporulação tem-se que o eugenol reduziu o número de esporos de *Fusarium*  
103 sp. e *Alternaria* sp. a partir de 2%, mas não foi avaliada a germinação destes esporos.

104 Na avaliação da esporulação foi observado o aumento do volume dos conídios  
105 de *Fusarium* sp., similar ao mencionado por Rana *et al.* (2011) com *Microsporium*  
106 *gypseum*, após 1 hora de exposição ao eugenol.

107 Segundo Wang *et al.* (2010), o eugenol não interferiu na germinação de *Botrytis*  
108 *cinerea*, similar a atividade de alguns tipos de fungicidas, mesmo sendo a fase de  
109 germinação considerada como a mais sensível à inibição por compostos químicos.  
110 Entretanto, a redução da esporulação observada neste trabalho, pode contribuir para  
111 diminuição da fonte de inóculo e, conseqüentemente, influenciar na incidência destes  
112 patógenos.

113 Desta forma, pode-se concluir que o eugenol é um composto alternativo  
114 promissor a ser utilizado no controle de *Fusarium* e *Alternaria*, em substituição aos  
115 fungicidas sintéticos em tratamento de pós-colheita, contribuindo para a oferta de frutos  
116 com menor resíduo de pesticidas.

117

118

119

120

121

122

123

124

125

126

127

128

129 **REFERÊNCIAS**

130 BALBI-PEÑA, M.I., BECKER, A., STANGARLIN, J.R., FRANZENER, G., LOPES,  
131 M.C. & SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por  
132 extratos de *Curcuma longa* e curcumina - II. Avaliação in vivo. **Fitopatologia**  
133 **Brasileira**, v.31, n.5, p.401-404, 2006.

134 CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças-**  
135 **Fisiologia e Manuseio**. Lavras: UFLA. 2005. 783p.

136 COSTA, A.R.T.1; AMARAL, M.F.Z.J.1; MARTINS, P.M.; PAULA, J.A.M.1; FIUZA,  
137 T.S.; TRESVENZOL, L.M.F1.;PAULA, J.R.1; BARA, M.T.F.Ação do óleo essencial  
138 de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry sobre as hifas de alguns fungos  
139 fitopatogênicos. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, v.13, n.2, p.240-245, 2011.

140 PARK, M.J.; GWAK, K.S.; YANG, I.; CHOI, W.S.; JO, H.J.; CHANG, J.W.; JEUNG,  
141 E.B.; CHOI, I.G. (2007). Antifungal activities of the essential oils in *Syzygium*  
142 *aromaticum* (L.) Merr. Et Perry and *Leptospermum petersonii* Bailey and their  
143 constituents against various dermatophytes. **The Journal Microbiology**, v.45, n.6,  
144 p.460-465, 2007.

145 PEDROSO, D.; MENEZES, V.; JUNGES, E.; MULLER, J.; GIRARDI, L.; DILL, A.  
146 MUNIZ, M.; BLUME, E. Potencial Inibitório *in vitro* de *Alternaria solani* Sob Efeito  
147 de Extratos Botânicos. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.4, n. 2, p. 4256-4259,  
148 2009.

149 RANA, I.S.; RANA. A.S.; RAJAK, R.C. Evaluation of antifungal activity in essential  
150 oil of *Syzygium aromaticum* (L) by extraction, purification and analysis of its main  
151 component eugenol. **Brazilian Journal Microbiology**, v.42, n4, 1269-1277, 2011.

152 SANTOS, L.G.M.; CARDOSO, M.G.; LIMA, R.K.; SOUZA, P.E.; GUIMARÃES,  
153 L.G.L. ANDRADE, M.A. avaliação do potencial fungitóxico do óleo essencial de  
154 *Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry (cravo-da-índia). **Tecno-lógica**, v.11, n. 1,  
155 p.11-14, 2007.

156 SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. de. Versão do programa computacional Assisat  
157 para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos**  
158 **Agroindustriais**, 4:71-78, 2002.

159 SILVA, J. L.; TEIXEIRA, R. N. V.; SANTOS, D. I. P.; PESSOA, J. O. Atividade  
160 antifúngica de extratos vegetais sobre o crescimento *in vitro* de fitopatógenos. **Revista**  
161 **Verde**, v.7, n.1, p.80, 2012.

162 XU, S.; YAN, F.; NI, Z.; CHEN, Q.; ZHANG, H.; ZHENG, X. In vitro and in vivo  
163 control of *Alternaria alternata* in cherry tomato by essential oil from *Laurus nobilis* of  
164 Chinese origin. **Journal Science Food Agric.**, v.94, n.7, p.1403-1408, 2014.

165 WANG, C., ZHANG, J.; CHEN, H., FAN, Y., SHI, Z. Antifungal activity of eugenol  
166 against *Botrytis cinerea*. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, n.3, p.137-143, 2010.

167

168 **Tabela 1.** Diâmetro do crescimento micelial, diâmetro de hifa e número de esporos de  
169 *Fusarium* sp. e *Alternaria* sp., em meio de cultura BDA contendo eugenol, nas  
170 concentrações de 0, 2, 4 e 8%, após cinco dias de incubação.

171 **Table 1.** Mycelial growth diameter, hyphal diameter and number of spores of *Fusarium*  
172 sp. and *Alternaria* sp. on PDA culture medium containing eugenol at concentrations of  
173 0, 2, 4 and 8% after five days of incubation.

Isolados fúngicos	Concentração de eugenol	Diâmetro do crescimento micelial (cm)	PIC (%)	Diâmetro de hifas (µm)	Número de esporos
<i>Fusarium</i> sp.	0%	2,92 a*	-	3,2 a	34,2 a
	2%	0,03 b	99,0 b	2,2 ab	11,6 b
	4%	0,00 b	100,0 a	3,2 a	3,0 bc
	8%	0,00 b	100,0 a	1,2 b	0,6 c
<i>Alternaria</i> sp.	0%	2,63 a	-	3,2 a	4,0 a
	2%	0,00 b	100,0 a	2,4 ab	1,0 b
	4%	0,00 b	100,0 a	1,0 b	0,0 b
	8%	0,00 b	100,0 a	1,2 ab	0,0 b

174 \*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferente entre si, a 5% de probabilidade pelo Teste de  
175 Tukey.

176

177

178

179