

**ESTUDO DA ESTABILIDADE E DO EFEITO
FUNGITÓXICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE
CAPIM-LIMÃO (*Cymbopogon citratus* (D.C.)
Stapf)**

LUIZ GUSTAVO DE LIMA GUIMARÃES

2007

LUIZ GUSTAVO DE LIMA GUIMARÃES

**ESTUDO DA ESTABILIDADE E DO EFEITO FUNGITÓXICO DO
ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM-LIMÃO (*Cymbopogon citratus* (D.C.)
Stapf)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal
de Lavras, como parte das exigências do Curso de
Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica,
para obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora

Prof^a. Dr^a. Maria das Graças Cardoso

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2007

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Guimarães, Luiz Gustavo de Lima

Estudo da estabilidade e do efeito fungitóxico do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf) / Luiz Gustavo de Lima Guimarães. -- Lavras: UFLA, 2007.

72. : il.

Orientador: Maria das Graças Cardoso.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Capim-limão. 2. óleo essencial. 3. Fungicida. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-630.24
-633.8849

LUIZ GUSTAVO DE LIMA GUIMARÃES

**ESTUDO DA ESTABILIDADE E DO EFEITO FUNGITÓXICO DO
ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM-LIMÃO (*Cymbopogon citratus* (D.C.)
Stapf)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal
de Lavras, como parte das exigências do Curso de
Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica,
para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 16 de fevereiro de 2007.

Prof. Matheus Puggina de Freitas.....UFLA

Prof. Paulo Estevão de Souza.....UFLA

Dra. Ana Paula Soares Pinto Salgado.....UFLA

Prof^ª. Dr^ª. Maria das Graças Cardoso
UFLA
(Orientadora)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

Aos meus pais,

Maria José e Nadir

Ao meu amor,

Tatiana

Ao meu irmão,

Thiago

À minha tia

Joana Maria

A Deus,

Por serem os alicerces de minha vida.

Amo vocês!

DEDICO E OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar a alegria de viver e conduzir a minha vida por caminhos vitoriosos.

À professora Maria das Graças Cardoso, pela orientação, amizade e por ter acreditado em mim, abrindo-me as portas do mundo da pesquisa. Sou-lhe eternamente grato.

Ao professor Paulo Estevão de Souza, pela co-orientação e disponibilidade.

Ao professor Augusto Ramalho de Moraes, pela grande ajuda com as análises estatísticas.

Ao colega Flávio Pimentel, por sempre estar disposto a me ajudar e a compartilhar seus conhecimentos.

Às colegas e amigas Ana Paula e Lidiany, por estarem sempre presente e por terem me ajudado na condução do experimento.

Aos colegas de Laboratório, Fernando, Priscila, Annete, Fabiana, Milene, Ana Elisa, Luciene, Rafaela, Juliana, Cleusa, Jean, Vanisse, Masson, Alcilene, Reinier e Sara, pela convivência harmoniosa e por estarem sempre dispostos a me ajudar.

Às funcionárias do Departamento de Fitopatologia Eloísa, Rute e Eliane, pela atenção e valiosa ajuda.

Ao Paulo Moreto, por ser sempre prestativo e pela concessão do material vegetal.

Às secretárias do Departamento de Química, Miriam e LÍlian, pela atenção e ajuda em qualquer momento.

A todos os professores do Departamento de Química, pela acessibilidade e interesse em ajudar.

Aos meus primos Érico e Clarissa, pela ajuda, atenção e companheirismo e aos meus tios Diva e Arlindo, por serem muito importantes em minha formação.

A todos os meus colegas de pós-graduação, pelas amizades e horas de estudo.

Ao Departamento de Fitopatologia, pelo espaço concedido para os ensaios biológicos.

Ao prof. Dr. Luiz Cláudio de Almeida Barbosa, do Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa – UFV, pela realização das análises cromatográficas.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudos.

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Departamento de Química, pela oportunidade concedida.

E a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, meu muito obrigado.

SUMÁRIO

| | |
|---|------|
| LISTA DE TABELAS..... | i |
| LISTA DE FIGURAS..... | ii |
| LISTA DE SÍMBOLOS..... | v |
| RESUMO..... | vii |
| ABSTRACT | viii |
| 1 INTRODUCAO | 1 |
| 2 REFERENCIAL TEÓRICO | 3 |
| 2.1 Plantas medicinais e aromáticas..... | 3 |
| 2.2 Metabólitos secundários | 4 |
| 2.2.1 Óleos essenciais | 6 |
| 2.2.2 Atividade biológica dos óleos essenciais | 11 |
| 2.3 Espécie <i>Cymbopogon citratus</i> (capim-limão)..... | 15 |
| 2.3.1 Óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> | 17 |
| 2.4 Fitopatógenos..... | 21 |
| 2.4.1 <i>Fusarium oxysporum</i> | 21 |
| 2.4.2 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | 23 |
| 2.4.3 <i>Rhizoctonia solani</i> | 24 |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS | 26 |
| 3.1 Material vegetal | 26 |
| 3.2 Extração do óleo essencial..... | 26 |
| 3.2.1 Identificação e quantificação dos constituintes químicos | 26 |
| 3.2.2 Avaliação da estabilidade | 28 |
| 3.2.2.1 Análise estatística | 29 |
| 3.3 Atividade biológica..... | 30 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 32 |
| 4.1 Identificação e quantificação dos constituintes do óleo essencial | 32 |

| | |
|-------------------------------------|----|
| 4.2 Avaliação da estabilidade | 34 |
| 4.3 Atividade Biológica | 48 |
| 5 CONCLUSÕES | 56 |
| 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 57 |
| ANEXOS | 66 |

LISTA DE TABELAS

| | | Página |
|----------|---|---------------|
| TABELA 1 | Constituintes do óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> identificados por CG/EM e seus respectivos teores..... | 33 |
| TABELA 2 | Resultados médios do teor de citral no óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> , com relação ao tempo, submetido à presença ou ausência de luz..... | 35 |
| TABELA 3 | Resultados médios do teor de mirceno no óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> , com relação ao tempo, submetido à presença ou ausência de luz..... | 36 |
| TABELA 4 | Resultados médios do teor de citral no óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> , com relação ao tempo e à temperatura..... | 38 |
| TABELA 5 | Resultados médios do teor de mirceno no óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> , com relação ao tempo e à temperatura..... | 39 |

LISTA DE FIGURAS

| | | Página |
|-----------|---|--------|
| FIGURA 1 | Principais rotas de biossíntese de metabólitos secundários..... | 6 |
| FIGURA 2 | Representação básica de um fenilpropanóide..... | 8 |
| FIGURA 3 | Estrutura química do isopreno..... | 8 |
| FIGURA 4 | Representação esquemática da biossíntese de terpenos, em que as unidades pentacarbonadas são sintetizadas por duas vias distintas (Adptado de Taiz et al., 2004)..... | 10 |
| FIGURA 5 | Representação da biossíntese dos terpenos pela via da 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato (DXPS)..... | 11 |
| FIGURA 6 | Estruturas químicas do α -pineno (a), β -pineno (b), 3-careno (c), limoneno (d) e α -terpineno (e)..... | 12 |
| FIGURA 7 | Estruturas do eugenol (a) e do carvacrol (b)..... | 13 |
| FIGURA 8 | Aspecto geral de uma touceira de <i>Cymbopogon citratus</i> (Capim-limão)..... | 16 |
| FIGURA 9 | Estruturas químicas dos isômeros formadores do citral..... | 19 |
| FIGURA 10 | Rota bioquímica de formação do citral (Adaptado de Iijima et al., 2006)..... | 20 |
| FIGURA 11 | Estrutura química do mirceno..... | 20 |
| FIGURA 12 | Estrutura química do Tebuconazole (alfa-terc-butil-alfa-(p-clorofenil)-1 H – 1, 2, 4 – triazole – 1 – etanol)..... | 30 |
| FIGURA 13 | Compostos identificados no óleo essencial de capim-limão (<i>Cymbopogon citratus</i>)..... | 32 |

| | | |
|-----------|---|----|
| FIGURA 14 | Decréscimo dos teores de citral no óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> em relação ao tempo e à presença /ausência de luz..... | 37 |
| FIGURA 15 | Decréscimo dos teores de mirceno no óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> em relação ao tempo e à presença /ausência de luz..... | 37 |
| FIGURA 16 | Decréscimo dos teores de citral no óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> em relação ao tempo e à presença /ausência de luz..... | 40 |
| FIGURA 17 | Decréscimo dos teores de mirceno no óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> em relação ao tempo e à presença /ausência de luz..... | 40 |
| FIGURA 18 | Espectro no infravermelho do óleo essencial fresco de <i>Cymbopogon citratus</i> | 42 |
| FIGURA 19 | Espectro no infravermelho do óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> submetido à luz..... | 43 |
| FIGURA 20 | Mecanismo da degradação do geranial via autoxidação..... | 45 |
| FIGURA 21 | Decomposição do geranial na presença de luz..... | 46 |
| FIGURA 22 | Oxidação do geranial a peróxido..... | 47 |
| FIGURA 23 | Efeito das concentrações do óleo essencial de <i>C. citratus</i> , citral, mirceno e tebuconazole sobre a inibição do crescimento micelial de <i>Rhizoctonia solani</i> | 48 |
| FIGURA 24 | Efeito das concentrações do óleo essencial de <i>C. citratus</i> , citral, mirceno e tebuconazole sobre a inibição do crescimento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> | 49 |
| FIGURA 25 | Efeito das concentrações do óleo essencial de <i>C. citratus</i> , citral, mirceno e tebuconazole sobre a inibição do crescimento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | 49 |

| | | |
|-----------|--|----|
| FIGURA 26 | Bioensaio realizado com óleo essencial de Capim-limão (<i>Cymbopogon citratus</i>) sobre o crescimento e/ou inibição micelial do fungo <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | 53 |
| FIGURA 27 | Bioensaios realizados com óleo essencial de Capim-limão (<i>Cymbopogon citratus</i>) sobre o crescimento e/ou inibição micelial dos fungos <i>Fusarium oxysporum</i> | 54 |
| FIGURA 28 | Bioensaio realizado com óleo essencial de Capim-limão (<i>Cymbopogon citratus</i>) sobre o crescimento e/ou inibição micelial dos fungos <i>Rhizoctonia solani</i> | 55 |

LISTA DE SÍMBOLOS

| | |
|----------------------|---|
| BDA | Batata, dextrose, ágar |
| BOD | Incubadora com “biological oxygen demand” |
| C₅ | Unidade isoprênica |
| CG | Cromatógrafo gasoso |
| CG/EM | Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa |
| DXPS | 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato |
| EM | Espectrometria de massa |
| FID | Detector por Ionização de Chamas |
| FPP | Farnesil difosfato |
| GEDH1 | Geraniol desidrogenase |
| GES | Geraniol sintase |
| GGPP | Geranylgeranyl difosfato |
| GPP | Geranyl difosfato |
| IPP | Isopentenil difosfato |
| ISO | International Standard Organization |
| IV | Espectrofotometria no infravermelho |
| MEP | Metilritrínol fosfato |
| OMS | Organização Mundial de Saúde |

RESUMO

GUIMARÃES, Luiz Gustavo de Lima. **Estudo da estabilidade e do efeito fungitóxico do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf)**. 2007. 72 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Os óleos essenciais estão sendo cada vez mais utilizados nas áreas de alimentos (condimentos e aromatizantes de alimentos e bebidas) e cosméticos (perfumes e produtos de higiene). Muitos desses compostos possuem importantes ações biológicas, fazendo-os objetos de estudos pela indústria de agroquímicos, na busca de substâncias fungicidas, bactericidas e inseticidas naturais. O capim-limão (*Cymbopogon citratus*) é uma planta aromática cultivada para produção comercial de óleo essencial conhecido como “Lemongrass Oil”. Neste trabalho, objetivou-se avaliar a constituição química, a estabilidade perante a luz e a temperatura, e o efeito fungitóxico desse óleo sobre os fitopatógenos *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani*. A identificação dos constituintes químicos do óleo essencial foi feita por meio de um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massa. Para a avaliação da estabilidade do óleo, esse foi submetido à presença e ausência de luz, e a diferentes temperaturas. Os teores dos componentes majoritários citral e mirceno foram avaliados a cada quinze dias em cromatógrafo gasoso com detector FID por meio de curvas analíticas construídas com soluções-padrão. A atividade fungitóxica foi realizada utilizando-se o método bioanalítico *in vitro*, em que o óleo essencial, os padrões dos componentes majoritários e o fungicida comercial (Tebuconazole) foram aplicados em várias concentrações sobre os fitopatógenos citados. Os constituintes majoritários do óleo essencial de capim-limão, “citral e mirceno” sofreram degradação em relação ao tempo, tanto na presença quanto na ausência de luz; já a temperatura influenciou apenas a degradação do mirceno. O óleo essencial inibiu completamente o crescimento micelial dos fitopatógenos na concentração de 250 ppm para o *Rhizoctonia solani* e de 500 ppm para o *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gloeosporioides*, inferindo que essa atividade pode ser devida à presença do citral.

* Comitê Orientador: Maria das Graças Cardoso – UFLA (Orientadora) e Paulo Estevão de Souza – UFLA (Co-orientador)

ABSTRACT

GUIMARÃES, Luiz Gustavo de Lima. **Study of stability and the fungitoxic activity of the essential oil of lemongrass (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf) essential oil.** 2007. 72 p. Dissertation (Master Program in Agriculture) – Federal University of Lavras, Minas Gerais, Brazil.*

Essential oils have been increasingly employed in the foods (aromas and spices for food and beverages) and cosmetics (perfumes and hygiene products). Most of these compounds have important biological action, making of them the objective of research in the agrochemical industry, in the search for natural fungicides, bactericides and insecticides. Lemongrass (*Cymbopogon citratus*), is an aromatic plant raised for the commercial production of essential oil. The present research was designed to evaluate the chemical composition, the stability to light and temperature, and the antifungal activity of this oil on the plant pathogens *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizoctonia solani*. The identification of the chemical compounds of the essential oil was performed on a gas chromatograph coupled to a mass spectrometer. To evaluate the stability of the oil, it was submitted to the presence and absence of light and to different temperatures. The yields of the major compounds, citral and myrcene, were evaluated every fifteen days in a gas chromatograph with a FID detector using analytical curves constructed with standard solutions. The *in vitro* bioassay method was used to determine the fungitoxic activity, in which the essential oil, the major compounds and the commercial fungicide (Tebuconazole) were applied in several concentrations to the plant pathogens. The major compounds of the essential oil of lemongrass, citral and myrcene, were degraded with time in both the presence and absence of light, but temperature only influenced the degradation of myrcene. The essential oil completely inhibited the mycelial growth of the plant pathogens at the concentration of 250 ppm for *Rhizoctonia solani*, and at 500 ppm for *Fusarium oxysporum* and *Colletotrichum gloeosporioides*, suggesting that this activity can be a result of the presence of citral.

* Orientation Committee: Maria das Graças Cardoso – UFLA (Orientator) e Paulo Estevão de Souza – UFLA (Joint Orientator).

1 INTRODUCAO

Desde os tempos mais remotos, a humanidade utiliza as plantas com finalidade terapêutica e, enquanto buscava alimentação para a sua sobrevivência, descobriram-se suas propriedades tóxicas ou curativas. Essas substâncias, sintetizadas pelas plantas e capazes de provocar reações nos organismos, são denominadas de princípios ativos.

Além do metabolismo primário, responsável pela produção de substâncias que realizam suas principais funções vitais, as plantas apresentam o chamado metabolismo secundário, do qual resultam substâncias de baixo a alto peso molecular, na maioria das vezes produzidas em pequenas quantidades. Essas funcionam como agentes defensivos na luta contra predadores, a exemplo de microrganismos patogênicos, insetos e animais herbívoros.

Entre os metabólicos secundários, há um destaque para os óleos essenciais, devido à sua utilização crescente nas áreas de alimentos (condimentos e aromatizantes de alimentos e bebidas) e cosméticos (perfumes e produtos de higiene). Muitos desses óleos possuem importantes ações biológicas, o que faz deles objetos de estudos, principalmente pela indústria de agroquímicos, na busca de substâncias fungicidas, bactericidas e inseticidas naturais.

O mercado para os produtos naturais tem sido promissor e sua demanda, crescente; porém, a falta de qualidade da matéria-prima é um problema freqüente em todos os segmentos da produção agrícola, a qual decorre geralmente da atual forma de exploração das plantas medicinais e da falta de controle de qualidade.

O capim-limão (*Cymbopogon citratus*), pertencente à família das Poaceae, é uma planta aromática cultivada para produção comercial de óleo

essencial, conhecido internacionalmente como óleo de “Lemongrass”. Essa essência é largamente empregada como agente aromatizante por determinadas indústrias por seu forte odor de limão. O componente mais importante de seu óleo é o citral, que é empregado na indústria farmacêutica para síntese de iononas e vitamina A (Carvalho et al., 2005).

Perante a crescente demanda pela utilização de produtos naturais e a importância do óleo essencial de capim-limão, objetivou-se avaliar com este trabalho a sua constituição química, sua estabilidade perante a luz e a temperatura, e o seu efeito fungitóxico sobre o crescimento micelial dos fitopatógenos *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Plantas medicinais e aromáticas

O homem tem utilizado as plantas medicinais e aromáticas, desde os primórdios, na alimentação, na cura de doenças e também na agricultura. Os egípcios as utilizavam na cosmetologia, medicina e para mumificação de corpos. Elas foram largamente empregadas também pelos chineses, indianos, hebreus, árabes, gregos e romanos.

As plantas aromáticas são caracterizadas por possuírem aroma agradável, capaz de sensibilizar nosso olfato, ao passo que as medicinais, por sua vez, possuem princípio ativo que, dependendo da concentração, podem possuir propriedades tóxicas ou curativas (Upnmoor, 2003).

A utilização das plantas medicinais e aromáticas tem sido feita por um público cada vez maior, recebendo inclusive incentivos da própria OMS (Organização Mundial de Saúde), que recomendou aos países membros que desenvolvessem pesquisas visando ao uso da flora com propósitos terapêuticos. São muitos os fatores que vêm colaborando no desenvolvimento de práticas de saúde que incluem plantas medicinais, principalmente econômicos e sociais. O principal fator a contribuir para o crescimento da prática terapêutica consiste no desenvolvimento de estudos químicos e farmacológicos que comprovem a eficácia dessas plantas (Castro et al., 2004).

Um aspecto relevante, de acordo com Cechinel Filho & Yunes (1998), é a quantidade de plantas existentes no planeta; estima-se que haja entre 250-500 mil espécies, sendo a maioria desconhecida sob o ponto de vista científico. Dessas, somente cerca de 5% têm sido estudadas fitoquimicamente e uma porcentagem ainda menor avaliada com relação aos aspectos biológicos.

Atualmente, os estudos realizados com o intuito de descobrirem novas substâncias naturais com atividades biológicas não se referem apenas ao desenvolvimento de fármacos, mas também de substâncias com efeitos fungitóxicos, inseticidas e bactericidas, podendo, assim, ser utilizadas não apenas na medicina, mas também na agricultura. Entre esses estudos, há uma crescente pesquisa com relação aos óleos essenciais, substâncias que possuem várias ações biológicas comprovadas, destacando as microbiológicas, principalmente no controle de fitopatógenos, sendo, portanto, compostos promissores para uma agricultura sustentável e ambientalmente correta.

2.2 Metabólitos secundários

Metabolismo é definido como o conjunto total das transformações das moléculas orgânicas, catalisadas por enzimas, que ocorre nas células vivas, suprindo o organismo de energia, renovando suas moléculas e garantindo a continuidade do estado organizado (Nelson & Cox, 2002). Essas reações possuem uma certa direção devido à presença de enzimas específicas, estabelecendo, assim, as rotas metabólicas. Os compostos químicos transformados (formados ou degradados) são chamados de metabólitos, sendo as reações envolvidas designadas como anabólicas, catabólicas ou de biotransformação. Essas reações visam, primariamente, ao aproveitamento de nutrientes para satisfazer as exigências fundamentais da célula (Santos, 2004).

Além do metabolismo primário, responsável pela síntese de celulose, lignina, proteínas, lipídeos, açúcares e outras substâncias importantes para a realização das funções vitais, as plantas também apresentam o chamado metabolismo secundário (Alves, 2001). Os vegetais produzem uma grande variedade de compostos orgânicos que não possuem ação direta conhecida em seus processos vitais, como fotossíntese, respiração, transporte de solutos, translocação, assimilação de nutrientes, diferenciação ou síntese de carboidratos,

proteínas e lipídeos. Tais substâncias são conhecidas como metabólitos secundários (Taiz & Zeiger, 2004).

Durante muito tempo, os metabólitos secundários foram considerados como produtos de excreção do vegetal, com estruturas químicas e propriedades biológicas interessantes. No entanto, sabe-se que muitas dessas substâncias estão diretamente envolvidas nos mecanismos que permitem a adequação do produtor a seu meio, sendo reconhecidas várias funções de substâncias pertencentes aos metabólitos secundários. De fato, várias funções de substâncias pertencentes a essa classe já foram reconhecidas, como, por exemplo, a defesa contra herbívoros e microrganismos, a proteção contra os raios UV, a atração de polinizadores ou animais dispersores de sementes, bem como sua participação em alelopatias (Santos, 2004; Taiz & Zeiger, 2004).

Segundo Alves (2001), os metabólitos secundários despertam grande interesse, não só pelas atividades biológicas exercidas pelas plantas em resposta aos estímulos do meio ambiente, mas também pela imensa atividade farmacológica desses. Muitos são de importância comercial não apenas na área farmacêutica, mas também nas áreas alimentar, agrônômica, perfumaria e outras. Entre os metabólitos secundários, os principais grupos de compostos encontrados com atividade biológica são os alcalóides, flavonóides, cumarinas, taninos, quinonas e óleos essenciais.

De acordo com Taiz & Zeiger (2004), os metabólitos secundários podem ser divididos em três grupos distintos: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados. Porém, a origem de todos eles parte do metabolismo da glicose, via dois compostos intermediários: o ácido chiquímico e o acetato (Figura 1) (Santos, 2004).

Os primeiros estudos realizados na elucidação das estruturas moleculares de metabólitos isolados de plantas foram feitos a partir do século XX, com a determinação estrutural da morfina, quinina e cânfora, importantes

compostos para o tratamento de enfermidades. Com o desenvolvimento de novas técnicas espectrométricas, como espectrofotometria de ultravioleta, espectrofotometria no infravermelho, espectrometria de massa e espectrometria de ressonância magnética nuclear, os químicos têm elucidado rapidamente estruturas moleculares complexas, até há pouco tempo, praticamente impossíveis de serem identificadas (Cechinel Filho & Yunes, 1998).

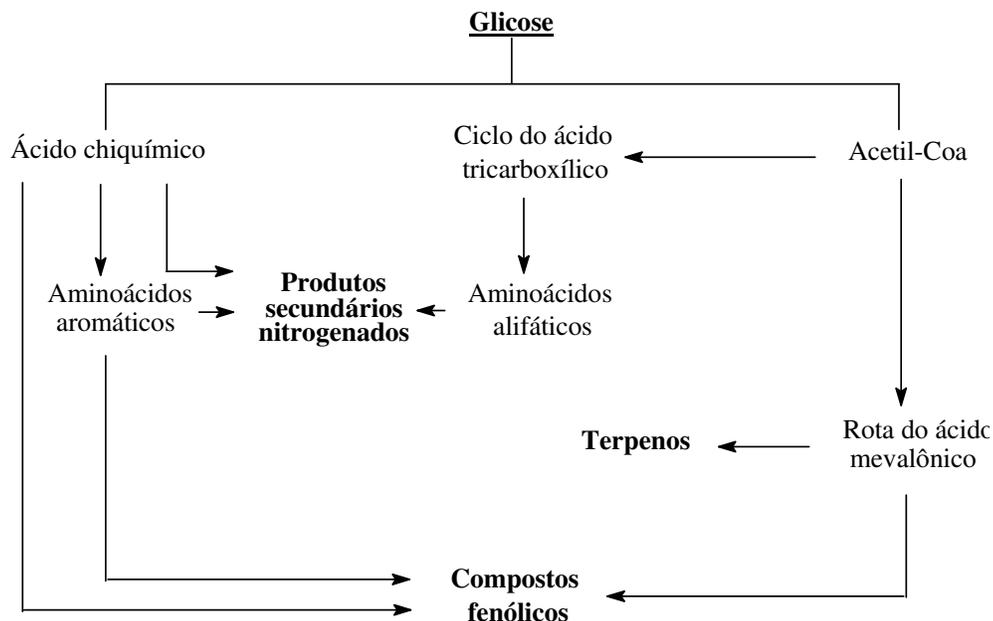


FIGURA 1 – Principais rotas de biossíntese de metabólitos secundários.

2.2.1 Óleos essenciais

Simões et al. (2004) definem os óleos essenciais, de acordo com a ISO (International Standard Organization), como os produtos obtidos de partes de plantas por meio de destilação por arraste com vapor d'água, bem como os

produtos obtidos por expressão dos pericarpos de frutos cítricos. De maneira geral, são misturas de substâncias orgânicas voláteis, de consistência semelhante ao óleo, definíveis por um conjunto de propriedades, entre as quais se destacam volatilidade, aroma agradável, solubilidade em solventes orgânicos apolares, entre outras. Assim diferem dos óleos fixos, que são misturas de substâncias lipídicas, obtidos geralmente de sementes. São também denominados de essências, óleos etéreos ou óleos voláteis. Quando recentemente extraídos são incolores ou ligeiramente amarelados; porém, alguns podem apresentar coloração intensa, como o óleo essencial de mil-folhas, de coloração azulada, pelo seu alto teor em azulenos. Em geral, na presença de oxigênio, luz, calor, umidade e metais, são muito instáveis, sofrendo inúmeras reações de degradação; a maioria dos óleos essenciais possui índice de refração e são opticamente ativos, propriedades essas usadas na sua identificação e controle de qualidade.

Nos vegetais, os óleos essenciais desenvolvem funções relacionadas com sua volatilidade, agindo na atração de polinizadores, na proteção contra predadores, patógenos, perda de água, aumento de temperatura e também desempenhando funções ecológicas, especialmente como inibidores de germinação. Essas características tornam as plantas que os produzem poderosas fontes de agentes biocidas, sendo largamente estudadas na agricultura, principalmente devido às atividades bactericidas, inseticidas e fungicidas (Craveiro & Machado, 1986; Harbone, 1993; citados por Simões et al., 2004).

Sua constituição química é muito variada, incluindo hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas e cumarinas, até compostos com enxofre. No entanto, a maioria é constituída de derivados de fenilpropanóides ou de terpenóides, sendo esses últimos preponderantes na

forma de monoterpenos e sesquiterpenos (Simões et al., 2004; Taiz & Zeiger, 2004).

Os fenilpropanóides formam-se a partir do ácido chiquímico, que forma as unidades básicas dos ácidos cinâmico e *p*-cumárico, sendo esses e seus derivados compostos fenólicos simples, contendo um anel benzênico e uma cadeia lateral de três carbonos de carbono como representado na Figura 2 (Taiz & Zeiger, 2004).

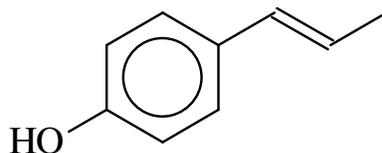


FIGURA 2 – Representação básica de um fenilpropanóide.

Os terpenóides constituem uma grande variedade de substâncias vegetais, sendo esse termo empregado para designar todas as substâncias cuja origem biossintética deriva de unidades do isopreno (2-metil-1,3-butadieno) (Figura 3).

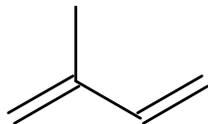


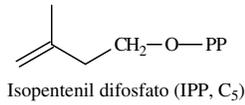
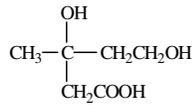
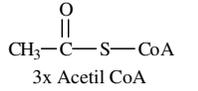
FIGURA 3 - Estrutura química do isopreno.

Os terpenos são classificados pelo número de unidades isoprênicas que possuem. Os terpenos de 10 átomos de carbono, que têm duas unidades C₅, são classificados como monoterpenos; os de 15 átomos de carbono (três unidades C₅) são os sesquiterpenos e aqueles de 20 átomos de carbono (quatro unidades C₅) são os diterpenos. Os maiores terpenos incluem os triterpenos (30 átomos de carbono), tetraterpenos (40 átomos de carbono) e os politerpenóides (com mais de 40 átomos de carbono) (Simões et al., 2004; Taiz & Zeiger, 2004).

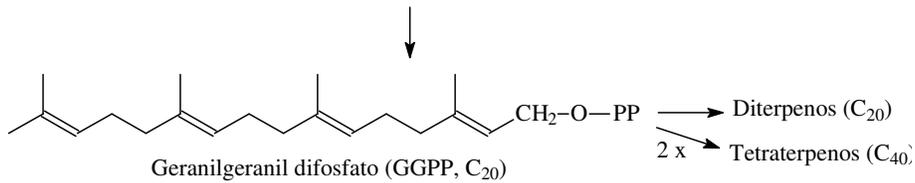
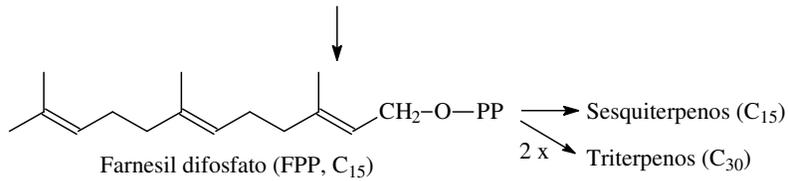
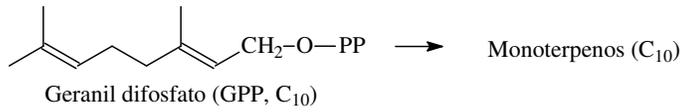
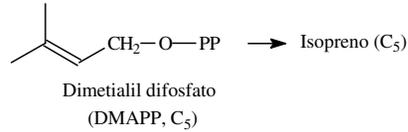
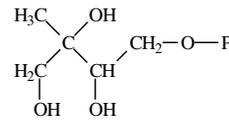
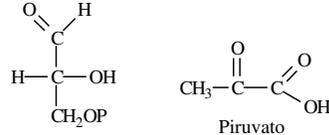
Os terpenos são biossintetizados a partir de metabólitos primários no mínimo por duas rotas diferentes. Pela rota do ácido mevalônico (Figura 4), três moléculas de acetil-Coa são ligadas por uma série de reações para formar o ácido mevalônico; esse intermediário é pirofosforilado e desidratado para produzir isopentenil difosfato (IPP). Esse é a unidade básica de formação dos terpenos. O IPP também pode ser formado por meio de um conjunto de reações denominadas rota do metilritrínol fosfato (MEP). Nessa, o isopentenil difosfato (IPP) e o dimetilalil difosfato (DMAPP) unem-se para formar o geranyl difosfato (GPP), uma molécula de 10 carbonos, a qual dá origem aos monoterpenos. O GPP, ligando-se a outra molécula de IPP, forma um composto de 15 carbonos, farnesil difosfato (FPP), precursor da maioria dos sesquiterpenos. A adição de mais uma molécula de IPP forma o geranylgeranyl difosfato (GGPP), com 20 átomos de carbonos, que dá origem aos diterpenos. E a dimerização de FPP e GGPP forma os triterpenos e os tetraterpenos, com 30 e 40 átomos de carbono, respectivamente (Simões et al., 2004; Taiz & Zeiger, 2004).

Outra rota de biossíntese de terpenos é a 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato (DXPS) (Figura 5). Por essa via, o piruvato e o gliceraldeído-3-fosfato formam o 1-deoxi-D-xilose-5-fosfato (DXPS) que, posteriormente, dá origem ao 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfato (MEP). Em seguida, são formados, por sucessivas reações, o isopentenil-difosfato (IPP) e o dimetilalil-pirofosfato (DMAPP) e, em seguida, dão origem aos terpenos (Wanke et al., 2001).

Rota do mevalonato



Rota do metileritritol fosfato



↓
Politerpenóides

FIGURA 4 – Representação esquemática da biossíntese de terpenos, tem que as unidades pentacarbonadas são sintetizadas por duas vias distintas (Adptado de Taiz & Zeiger, 2004).

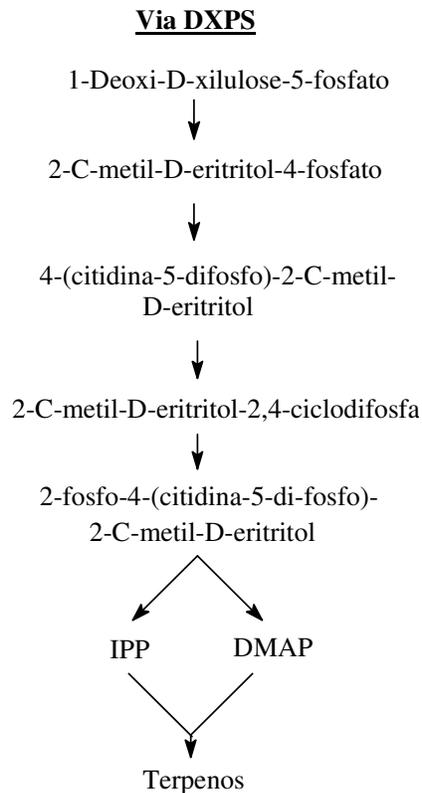


FIGURA 5 – Representação da biossíntese dos terpenos pela via da 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato (DXPS) (adaptado de Wanke et al., 2001).

2.2.2 Atividade biológica dos óleos essenciais

Os terpenos abrangem uma grande variedade de substâncias de origem vegetal e são ecologicamente importantes como defensivos de plantas. Os monoterpenos apresentados na Figura 6 foram isolados e avaliados quanto à toxicidade para diferentes insetos. O α -pineno (a) e o β -pineno (b) causaram a morte de 5% a 10% dos insetos da espécie *Dendroctonus micans*, o 3-careno (c) foi testado contra *Ips typographus*, ocasionando a morte de 7-20% desses insetos; o limoneno (d) não apresentou efeito inseticida quando avaliado contra

Rhizophagus grandis e o α -terpineno (e), aplicado sobre *Fórmica rupa*, mostrou ser um potencial inseticida, causando uma taxa de mortalidade de 100% (Viegas Junior, 2003).

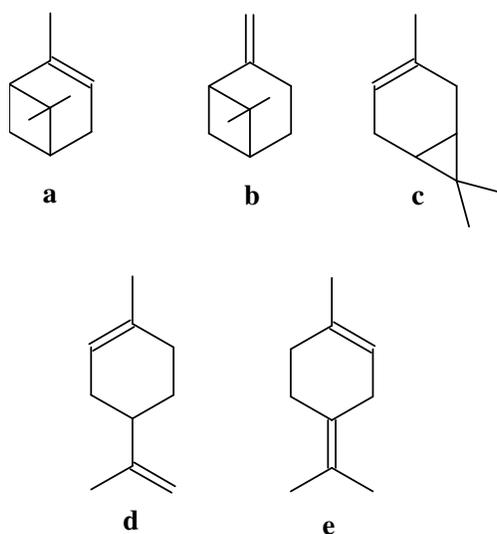


FIGURA 6 – Estruturas químicas do α -pineno (a), β -pineno (b), 3-careno (c), limoneno (d) e α -terpineno (e).

Em vários estudos, relata-se a atividade dos óleos essenciais ante os mais variados microrganismos, Cimanga et al. (2002) recomendaram o uso de *Eucalyptus camadulensis* para o tratamento de algumas infecções, já que se constatou um forte efeito bactericida do seu óleo essencial sobre *Pseudomonas aeruginosa*. Recentemente Castro (2006) demonstrou o efeito inibitório do óleo essencial dessa espécie de eucalipto sobre o crescimento celular de *Herpetomonas samuelpessoai*, que foi inibido em 55,4%, 62,3% e 96,2% nas concentrações de 0,1, 1 e 10 mg.mL⁻¹, respectivamente. O 1,8-cineol foi

encontrado em uma concentração de 59,43% nesse óleo, sugerindo que esse composto é o responsável por tal ação.

Nos trabalhos de Salgado et al. (2003) demonstrou-se o efeito fungicida dos óleos essenciais de três espécies de eucalipto (*Eucalyptus urophylla*, *Eucalyptus citriodora* e *Eucalyptus camaldulensis*) sobre os fitopatógenos (*Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana*). Entre os óleos estudados, o de *Eucalyptus urophylla* foi o que apresentou maior ação fungitóxica, que foi atribuída ao globulol, composto majoritário desse óleo, não detectado nos demais.

Avaliando o efeito fungitóxico de 37 óleos essenciais sobre *Fusarium verticillioides*, *F. proliferatum* e *F. graminearum*, Velluti et al. (2004) encontraram atividades fungitóxicas para os óleos de orégano, cinamomo e cravo-da-índia. Essa atividade foi atribuída ao eugenol, composto majoritário dos óleos essenciais de cravo-da-índia e cinamomo, e ao carvacrol (Figura 7), composto majoritário do óleo essencial de orégano.

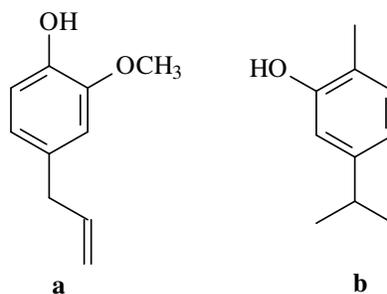


FIGURA 7 – Estruturas do eugenol (a) e do carvacrol (b).

Em estudos feitos por Nguefack et al. (2004) verificou-se que os óleos essenciais de *Ocimum gratissimum*, *Thymus vulgaris* e *Cymbopogon citratus*

apresentavam um grande potencial biológico como conservantes de alimentos, pois foram testados contra *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus fumigatus*, apresentando alta toxicidade.

Al-Burtamani et al. (2005) demonstraram o efeito bactericida e fungicida do óleo essencial de *Haplophyllum tuberculatum* sobre as bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella choleraesuis*, *Candida albicans* e *Bacillus subtilis*; e os fungos *Alternaria alternata*, *Bipolaris* sp, *Curvularia lunta*, *Fusarium oxysporium* e *Stemphylium solani*. O efeito bactericida e fungitóxico desse óleo foi atribuído aos seus componentes majoritários β -felandreno (23,3%), limoneno (12,6%), (Z)- β -ocimeno (12,3%), β -cariofileno (11,6%), mirceno (11,3%) e α -felandreno (10,9%).

Oxenham et al. (2005) demonstraram, com dois quimiotipos de óleos essenciais de *Ocimum basilicum*, o efeito fungitóxico sobre *Botrytis fabae* dos compostos metil chavicol, linalol, eugenol e eucalipitol, componentes majoritários desses óleos essenciais.

Cakir et al. (2005) constataram efeito fungicida do óleo essencial de *Hypericum linarioides* em seis espécies do gênero *Fusarium* (*F. acuminatum*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. sambucinum* e *F. solani*); no entanto, não identificaram o composto responsável por esse efeito, pois os compostos presentes no óleo essencial encontravam-se em concentrações baixas e semelhantes.

Pereira (2006) comprovou efeito inibitório dos óleos essenciais de *Cymbopogon citratus*, *Origanum vulgare* e *Syzygium aromaticum* sobre as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, concluindo que o efeito foi devido à presença dos compostos majoritários citral, terpen-4-ol e eugenol encontrados nesses óleos, respectivamente.

Estudando a atividade fungitóxica dos óleos essenciais extraídos das folhas, caule e frutos das seguintes espécies de pimentas: *Piper aduncum*, *Piper*

arboreum e *Piper tuberculatum*; sobre *Cladosporium sphaerospermum* e *Cladosporium cladosporioides*, Navickiene et al. (2006) encontraram atividade dos óleos essenciais extraídos dos frutos de *Piper aduncum* e *Piper tuberculatum* contra os dois microrganismos, das folhas de *Piper aduncum* e do caule de *Piper tuberculatum* contra *Cladosporium sphaerospermum* e não constataram atividade alguma para os óleos essenciais extraídos das partes de *Piper arboreum*.

Entretanto, há muitos estudos sobre os óleos essenciais, principalmente quanto às suas atividades biológicas.

2.3 Espécie *Cymbopogon citratus* (capim-limão)

Cymbopogon citratus é conhecido popularmente no Brasil como capim-limão, capim-cidró, capim-cheiroso, capim-cidreira, capim-cidrão, citronela-de-java e erva-cidreira. É uma espécie da família das Gramíneas, subfamília Panicoideae (Figura 8) (Abegaz & Yohannes, 1983).

Trata-se de uma planta herbácea, cespitosa, estolonífera, perene, que cresce cerca de 1,0 m em altura, forma touceiras de perfilhos ao nível do solo, apresentando rizomas semi-subterrâneos, acaule, de folhas longas, linear-lanceoladas, ásperas nas duas faces, paralelinérveas, bordo liso, cortante, nervura central grossa e caniculada, recobertas por uma fina camada de cera. (Castro & Ramos, 2003; Correia, 1984)

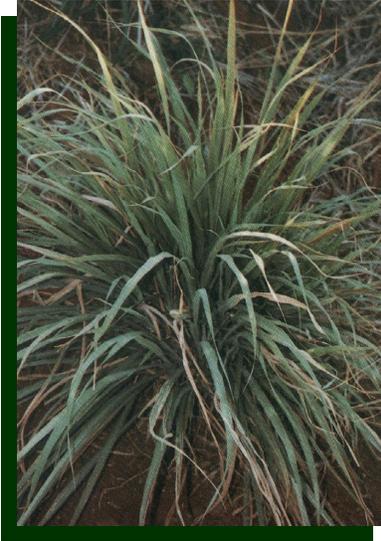


FIGURA 8 – Aspecto geral de uma touceira de *Cymbopogon citratus* (capim-limão).

É originária da Ásia, cultivada em todas as regiões dos trópicos, preferindo climas quentes e úmidos, com chuvas bem distribuídas e temperatura média elevada, não resistindo a regiões frias sujeitas a geadas. É cultivado a pleno sol, cresce em qualquer solo, desde que bem drenado e fértil (Corrêa Junior et al., 1994).

No Brasil, as folhas de capim-limão apresentam largo uso popular como sedativo, sudorífero, carminativo, febrífugo, diurético, antipirético e anti-reumático. Há também registro de seu uso caseiro para combater diversas afecções das vias respiratórias e digestivas. Na Ásia, o chá de suas folhas possui emprego popular como febrífugo e as raízes são usadas como goma de mascar para a limpeza dos dentes (Figueiredo et al., 2002).

Os constituintes químicos do capim-limão são descritos em função dos grupos químicos a que pertencem: hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, cetonas, flavonóides e alcalóides. Entre os constituintes fixos da parte aérea, foram

encontrados flavonóides, substâncias alcalóidicas, uma saponina esterólica, β -sitosterol, hexacosanol e triacontanol, triterpenóides, cimbopogonol e cimbopogona (Silva Junior & Verona, 1997).

Essa planta produz óleo essencial com forte odor de limão, sendo amplamente empregado na indústria farmacêutica e de perfumaria, conhecido internacionalmente como “lemongrass”, sendo os principais países produtores a Índia, Guatemala, Haiti, Madagascar, Indochina e Brasil (Leal et al., 2001).

2.3.1 Óleo essencial de *Cymbopogon citratus*

O óleo essencial de capim-limão possui forte odor de limão e é largamente empregado como aromatizante em perfumaria e cosmética, na preparação de colônias, sabonetes e desodorantes. Porém, seu maior emprego tem sido na indústria farmacêutica, servindo de material de partida para síntese de importantes compostos, como iononas, metil-iononas e vitamina A.

Sua composição química é relatada em diversos trabalhos, nos quais o citral é citado como o constituinte principal, seguido por outros compostos, tais como o mirceno, que pode ser encontrado em altos teores. Além desses, encontram-se vários aldeídos, como o citronelal, isovaleraldeído e decilaldeído; cetonas, álcoois como o geraniol, nerol, metil heptenol, farnesol. (Costa et al., 2005; Lewinsohn et al., 1998; Pereira, 2006; Teske & Trentini, 1997).

Devido ao seu valor econômico, vários estudos sobre o rendimento do óleo essencial e o processamento pós-colheita foram realizados. Martins et al. (2002) encontraram teores de óleo essencial em relação à matéria seca que variaram de 1,30% a 1,67%, dependendo da temperatura de secagem e da velocidade do ar. Silva et al. (2005) correlacionaram vários métodos de secagem com o rendimento do óleo essencial, constatando que a secagem em lona preta ao sol foi o mais eficiente, encontrando um teor de 1,0622% de óleo essencial. Costa et al. (2005) estudaram a influência da fragmentação das folhas secas no

rendimento do óleo essencial, encontrando rendimentos variáveis entre 8,148 a 14,525 g/kg de matéria seca, verificando que a matéria seca, quando reduzida a pó, proporcionava um maior rendimento.

O citral, constituinte majoritário do óleo de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), é citado como sendo o responsável pelas muitas atividades atribuídas ao seu óleo essencial, tais como germicidas, repelentes de insetos, aplicações na indústria farmacêutica, entre outras. Dessa maneira, há uma grande importância em avaliar o seu teor no óleo essencial. De acordo com Siqueira et al. (1986), citado por Martins et al. (2002), o teor de citral no óleo essencial das plantações brasileiras está em torno de 75% a 86%, valor bastante satisfatório para o mercado internacional.

Leal et al. (2001) avaliaram o efeito da variação estacional e horário de colheita sobre o teor foliar do óleo essencial, encontrando uma variação de acordo com a época de colheita, o que evidencia a influência de variações climáticas sazonais sobre o rendimento de óleo essencial.

Lewinsohn et al. (1998) demonstraram que o óleo essencial de *Cymbopogon citratus* encontra-se em células parenquimáticas diferenciadas presentes em suas folhas, e não em estruturas secretoras especializadas, tais como pêlos ou tricomas glandulares, corpos oleíferos, bolsas lisígenas ou esquizolisígenas, onde normalmente estão armazenados os óleos essenciais de outras plantas aromáticas.

O citral é uma mistura isomérica de geranial ((2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal, citral A ou isômero E) e neral ((2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal, citral B ou isômero Z) (Figura 9) (El-Fattah et al., 1992).

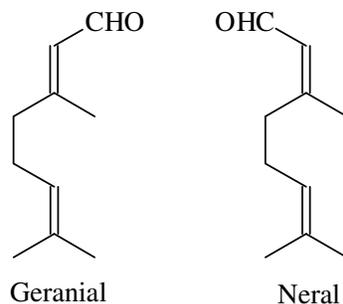


FIGURA 9 – Estruturas químicas dos isômeros formadores do citral.

Kikonyogo et al. (1999) revelaram a capacidade do citral de agir como inibidor e substrato da enzima aldeído desidrogenase, impossibilitando a biosíntese do ácido retinóico. Esses citam o geranial como o composto responsável por tal ação. Nakamura et al. (2003), utilizando células de fígado de ratos, verificaram a habilidade do citral em suprimir o estresse oxidativo, possibilitando diretamente a indução da glutathione S-transferase, enzima capaz de degradar hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. Foi demonstrado também que o geranial é o responsável por tal atividade do citral, devido à presença da carbonila de aldeído, conjugada com dupla ligação na posição trans. Com isso, o citral pode ser indicado como agente quimiopreventivo contra o câncer de pele.

A rota bioquímica para formação do citral (Figura 10), partindo do geranil difosfato (GPP), foi proposta por Iijima et al. (2006); o GPP sofre uma reação catalisada pela geraniol sintase (GES), sendo convertido em geraniol. O geraniol é, então, oxidado pela ação da geraniol desidrogenase (GEDH1) originando o geranial. Por meio de uma tautomerização ceto-enólica, que facilita a rotação da ligação entre os carbonos dois e três, o geranial que possui a configuração E é convertido em neral configuração Z.

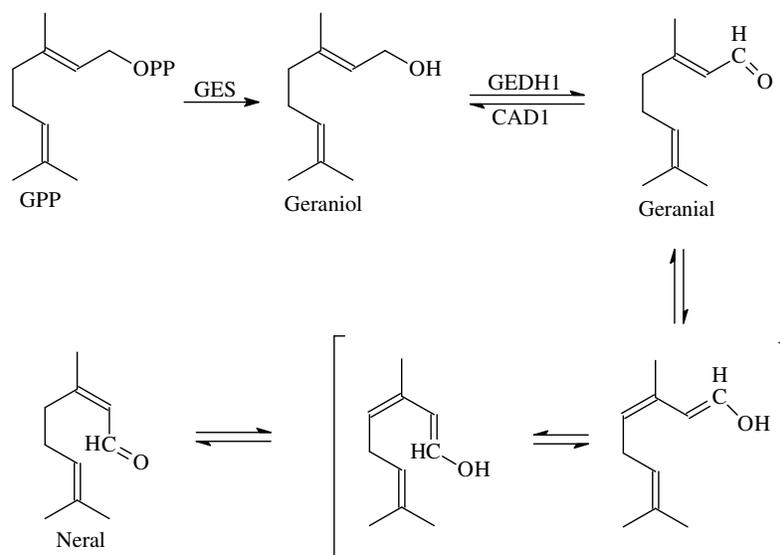


FIGURA 10 – Rota bioquímica de formação do citral (Adaptado de Iijima et al., 2006).

O mirceno, outro composto majoritário encontrado no óleo essencial do capim-limão, pode ser observado em ampla variedade de plantas. É um monoterpene acíclico, como observado na Figura 11, de nome sistemático 7-metil-3-metileno-1,6-octadieno.

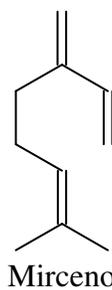


FIGURA 11 – Estrutura química do mirceno.

Em vários estudos são demonstradas as atividades biológicas desse composto; De-Oliveira et al. (1997a) avaliaram a capacidade desse em interferir na atividade enzimática de algumas enzimas microssomais, principalmente monooxigenases. Em outro trabalho, De-oliveira et al. (1997b) demonstraram que o mirceno é um inibidor reversível da isoenzima CYP2B1, pertencente à subfamília de enzimas do citocromo P4502B, presente em mamíferos. Com isso ele, é capaz de interferir na biotransformação de drogas, como ciclofosfamidas, barbituratos, bromobenzeno e outras, que são substratos dessa enzima.

2.4 Fitopatógenos

Os fungos são organismos eucarióticos, aclorofilados (heterotróficos), portadores de esporos, que podem reproduzir-se sexuadamente (forma teleomórfica) ou assexuadamente (forma anamórfica). Suas características sofrem grandes variações por causa das condições culturais, sendo diversificados filogeneticamente. São conhecidas aproximadamente 60.000 espécies de fungos que se diferem em aspectos físicos, químicos, fisiológicos, etc.

Os fungos exercem um papel de grande relevância nos diferentes ecossistemas que integram. Do ponto de vista humano, os fungos podem ter um lado positivo e outro negativo. Positivamente, são utilizados na indústria, na medicina, na alimentação, entre outras áreas. Por outro lado, são maléficos, podendo causar doenças em homens e animais. Além disso, são os principais causadores de doenças em plantas, acarretando sérios prejuízos na agricultura mundial (Bergamin Filho et al., 1995).

2.4.1 *Fusarium oxysporum*

Os fungos do gênero *Fusarium* são de grande importância fitopatológica, podendo ser associados a podridões de raiz, murchas vasculares e

deterioração de sementes. Esse gênero apresenta também algumas espécies produtoras de micotoxinas em grãos armazenados (Bergamin Filho et al. 1995). Pertence ao reino Fungi, divisão: *Eumycota*, subdivisão: *Deuteromycotina*, classe: *Hyphomycetes*, ordem: *Moniliales*, família: *Moniliaceae* e gênero: *Fusarium*. Sua fase teleomórfica (sexual) pertence à ordem *Hypocreales* e gênero *Nectria*. (Lacaz et al., 1998).

A maioria das espécies do gênero *Fusarium* habita as partes subterrâneas e raízes das plantas, fragmentos vegetais e compostos orgânicos depositados até 100 cm de profundidade do solo. Esses fungos, parasitas ou saprófitos dispersam seus propágulos por ação da água de chuva, ventos e insetos (Godoy & Colombo, 2004).

De acordo com Guarro & Gene (1992), as culturas de *Fusarium* spp são caracterizadas pelo crescimento rápido da colônia, com micélio aveludado e levemente cotonoso, opaco ou discretamente brilhante. Após sete a dez dias de incubação a 25°C, o fungo pode apresentar características de pigmentação do micélio de cor rosa, púrpuras, cinza ou amarelas, sendo essas características importantes para identificação das espécies.

Os fungos do gênero *Fusarium* são considerados um dos mais importantes fitopatógenos do mundo, tendo, nos últimos anos, em alguns países, adquirido importância como produtores de micotoxinas responsáveis por doenças em animais e humanos. O mal-do-panamá (fusariose ou murcha de fusarium) é causado pelo fungo *Fusarium oxysporum cubense*, um fungo de solo com alta capacidade de sobrevivência. Essa espécie está em todos os estados brasileiros produtores de banana, uma das frutas de maior consumo *in natura* do mundo. O controle químico, a rotação de culturas e a inundação, entre outras medidas de controle, não têm sido eficientes (Ventura, 1999).

A maior parte das espécies do gênero parasita sementes de cereais e outros frutos do campo, causando danos antes e depois da colheita, gerando

prejuízos à agricultura mundial. A variedade *Fusarium oxysporum* produz doenças em tomate, batata-doce, pêra. Essa foi responsável pela doença das bananas do Panamá, ocasionando o abandono de milhares de acres na América Central (Alexopoulos et al., 1996).

2.4.2 *Colletotrichum gloeosporioides*

É um fungo mitospórico, ordem Melanconiales, família Melanconiaceae. O telomorfo (fase sexuada) é descrito como *Glomerella congesta*, no filo Ascomycota, classe Ascomycetes, ordem Phyllachorales e família Glomerellaceae (Martins et al., 2005).

Várias espécies de *Colletotrichum* são responsáveis por causarem antracnose em frutos, principal doença de pós-colheita, afetando frutas como a banana, o caju, a manga, o mamão, o maracujá, nas regiões tropicais e subtropicais do planeta. (Peres et al., 2002).

Segundo Lopez (2001), patógenos do gênero *Colletotrichum*, além de causarem danos a frutos em período de pós-colheita, parasitam mais de uma centena de angiospermas, sendo causadores de doenças economicamente importantes em cereais, gramíneas, leguminosas, plantas perenes, afetando a parte aérea das plantas hospedeiras em todos os estágios de desenvolvimento, desde plantas adultas, até sementes.

A antracnose em frutos é caracterizada por apresentar lesões arredondadas, grandes, necróticas e bordos ligeiramente elevados com o centro dos tecidos deprimidos, onde são produzidas massas de conídios de coloração alaranjada, ocorrendo uma podridão-mole nos frutos, prejudicando a sua comercialização (Bailey et al., 1992; Lima et al., 1993).

Colletotrichum gloeosporioides possui vários hospedeiros que infectam goiabeira, mangueira, mamoeiro, cajueiro, certas aonáceas, como pinha, biriba e frutíferas do grupo das Spondias, como cajazeira, seriguela, entre outras

(Menezes, 2002). Segundo Junqueira et al. (2005), a antracnose no maracujazeiro encontra-se disseminada em todas as regiões produtoras, não apenas no Brasil, como também em outros países que exploram a cultura.

De acordo com Orozco (2003), *Colletotrichum gloeosporioides* é o causador da mancha-manteigosa do cafeeiro, responsável por gerar grandes perdas nas lavouras e, conseqüentemente, na produção de grãos. Lins (2006) demonstrou a presença desse fitopatógeno nos tecidos de plântulas de cafeeiro oriundas de sementes de plantas com mancha-manteigosa, corroborando com trabalhos anteriores, que citam o *Colletotrichum gloeosporioides* como o agente causal da mancha-manteigosa do café.

2.4.3 *Rhizoctonia solani*

É um importante patógeno veiculado pelo solo, estando associado à podridão de pré-emergência e ao tombamento em pós-emergência, também conhecido como *damping-off*. Constitui-se na fase anamórfica de *Thanatephorus cucumeris*, Basidiomycetes da família Ceratobasidiaceae. Ocorre exclusivamente na forma micelial, não produzindo esporos e sobrevivendo no solo pela formação de escleródios (Bergamin Filho et al., 1995).

Segundo Botelho et al. (2001), *Rhizoctonia solani* é um dos patógenos radiculares mais comuns e de maior importância na cultura do feijoeiro, podendo causar podridões de sementes e raízes, cancos no hipocótilo e tombamento de plântulas. O fungo sobrevive saprofiticamente no solo, sendo capaz de infectar plantas nativas ou em estágio de dormência, como micélio e escleródios. Esses propágulos são geralmente encontrados nas camadas superficiais do solo, nos primeiros 10 cm, devido à dependência de oxigênio.

O comportamento saprofítico ou patogênico de *Rhizoctonia solani* está relacionado a alguns fatores edáficos de natureza biótica e abiótica. Os fatores bióticos estão envolvidos com a microbiota do solo, e os abióticos, com as

condições ambientais, como a temperatura, umidade, aeração, concentração de CO₂ e pH do solo. O tipo de material orgânico presente no solo, a relação C:N e o nível de decomposição também são importantes. (Sannazzaro et al., 2001).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material vegetal

O material vegetal (folhas frescas de *Cymbopogon citratus*) foi coletado na Empresa de Produção de Sementes de Hortaliças “HORTIAGRO”, localizada no município de Ijaci – MG. A coleta foi realizada no dia 25 de maio de 2006 no período da manhã, em torno das 7 horas, com temperatura amena e ausência de chuva. Foram coletadas folhas jovens, cortadas a uma altura de 35 cm do solo.

3.2 Extração do óleo essencial

O processo de extração do óleo essencial foi realizado no Laboratório de Química Orgânica do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras (UFLA) – Lavras – MG. O método empregado foi o de arraste a vapor, utilizando-se o aparelho de Cleverger modificado adaptado a um balão de fundo redondo com capacidade de 4 litros (Castro et al., 2006). As folhas frescas de *Cymbopogon citratus* foram picadas para aumentar a superfície de contato e favorecer a extração do óleo essencial. Em seguida, elas foram colocadas no balão e recobertas com água. O processo de extração foi realizado em um período de 2 horas, mantendo a solução em ebulição. Posteriormente, coletou-se o hidrolato, que foi centrifugado em centrífuga de cruzeta horizontal a 965,36 x G por 5 minutos. O óleo foi retirado com o auxílio de uma pipeta de Pasteur e acondicionado em frasco de vidro.

3.2.1 Identificação e quantificação dos constituintes químicos

A análise qualitativa do óleo essencial foi realizada no Laboratório de Análises e Sínteses de Agroquímicos do Departamento de Química da

Universidade Federal de Viçosa (UFV) – Viçosa – MG, por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa CG/(EM). O cromatógrafo utilizado foi o modelo Shimadzu CG-17A equipado com detector seletivo de massa modelo QP 5000. O equipamento foi operado nas seguintes condições: coluna capilar de sílica fundida (30m X 0,25mm) com fase ligada DB5 (0,25 µm de espessura de filme); temperatura do injetor de 220°C; programação da coluna com temperatura inicial de 40°C, sendo acrescentados 3°C a cada minuto, até atingir 240°C; gás carreador hélio (1mL min⁻¹); pressão inicial na coluna de 100,2 KPa; taxa de split 1:10 e volume injetado de 1 µL (1% de solução em diclorometano). Para o espectrômetro de massas (EM), foram utilizadas as seguintes condições: energia de impacto de 70 eV; velocidade de decomposição 1000; intervalo de decomposição de 0,50; e fragmentos de 45 Da e 450 Da decompostos. Foi injetada, nas mesmas condições da amostra, uma série de padrões de hidrocarbonetos (C₉H₂₀ C₂₆H₅₄). Os espectros obtidos foram comparados com o banco de dados da biblioteca Wiley 229 e o índice Kovats calculado para cada constituinte foi comparado com o tabelado, de acordo com Adams (1995).

A avaliação dos teores dos constituintes do óleo essencial foi feita no Laboratório de Química Orgânica do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras (UFLA) – Lavras – MG, utilizando um cromatógrafo gasoso Shimadzu GC 17A equipado com detector por ionização de chamas (FID), nas condições operacionais: coluna capilar DB5; programação da coluna com temperatura inicial de 40°C até 240°C; temperatura do injetor de 220°C; temperatura de detector de 240°C; gás carreador nitrogênio (2,2 mL min⁻¹); taxa de split 1:10 e volume injetado de 1 µL (1% de solução em diclorometano) e pressão na coluna de 115 KPa, sendo a quantificação de cada constituinte obtida por meio de normalização de áreas (%).

3.2.2 Avaliação da estabilidade

Os estudos para avaliação da estabilidade do óleo essencial foram feitos no Laboratório de Química Orgânica do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras (UFLA) – Lavras – MG, sendo avaliados de acordo com a variação dos teores de citral e mirceno em relação ao tempo de exposição do óleo a diferentes temperaturas e ausência / presença de luz.

Foram colocados 3 mL do óleo essencial em frascos de vidro transparente com capacidade para 10 mL. Para a avaliação da temperatura em relação ao tempo, os frascos foram envolvidos por papel-alumínio para proteção contra a luz e devidamente vedados. Esses foram divididos em três lotes e acondicionados nos seguintes ambientes: em geladeira cuja temperatura variou de 5 a 7 °C (temperatura baixa); em estufa com temperatura de 35 a 40°C (temperatura alta) e em temperatura ambiente com média de temperatura de 18°C. Para a avaliação da luz, os frascos foram mantidos em temperatura ambiente com média de 18 °C (mínima de 10,7e máxima de 28,3 °C) e divididos em dois tratamentos, um com os frascos envolvidos por papel-alumínio e outro com os frascos sem proteção alguma. Os teores de citral e mirceno foram avaliados por cromatografia gasosa a cada 15 dias por um período de 120 dias, a partir da data de extração.

As análises quantitativas de citral e mirceno foram efetuadas utilizando-se cromatógrafo gasoso Shimadzu GC 17A equipado com detector por ionização de chamas (FID), nas seguintes condições experimentais: coluna DB5; temperatura do injetor de 220°C; temperatura do detector de 240°C; programação da coluna com temperatura constante de 100°C; gás carreador Nitrogênio (1 mL/min); taxa de split 1:20; e volume injetado de 1µL (1,5% de solução em diclorometano). Para a calibração externa, prepararam-se soluções com os padrões de citral e mirceno. A solução-padrão de citral foi preparada nas concentrações de 4, 6, 8, 10, 12 mg.mL⁻¹, sendo constituída dos dois

componentes, geranial e neral, utilizando diclorometano como solvente. Já a solução-padrão de mirceno foi preparada nas concentrações de 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mg.mL⁻¹ utilizando hexano como solvente. Por meio das curvas analíticas (em anexo) construídas com as soluções-padrão, determinaram-se os teores dos compostos analisados, transformando-se os valores de resposta registrados em teor dos componentes. A determinação do teor de citral foi dada pela soma das áreas do geranial e do neral (Martins et al., 2002).

Foram realizadas análises por espectrometria no infravermelho com o óleo essencial fresco e para cada tratamento no fim de cada experimento, a fim de verificar possíveis alterações nos grupos funcionais dos compostos presentes no óleo essencial. Os espectros foram obtidos em espectrômetro Excalibur Series Digilab FTS – 3000, utilizando-se a técnica de filme em janela de KBr.

3.2.2.1 Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com três repetições. Os tratamentos foram dispostos no esquema fatorial de 2 x 9 para avaliação quanto à luz, sendo constituído pelas combinações dos níveis de luz (presença e ausência) com os tempos de exposição (0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120 dias) e 3 x 9, para avaliação quanto à temperatura, sendo constituído pelas combinações das diferentes temperaturas (baixa, ambiente e alta) com os tempos de exposição (0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120 dias).

Ambas as análises de variância foram feitas de acordo com sugestão de Pimentel-Gomes (2000) para os experimentos fatoriais, sendo utilizados a análise de regressão para avaliar o comportamento dos constituintes em relação ao tempo de exposição, o Teste T (5%) para comparar os efeitos médios, e o Teste F para confirmar a variação nos teores dos compostos para os tratamentos em cada tempo, e na média geral dos tempos.

3.3 Atividade biológica

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Epidemiologia e Manejo do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA) – Lavras – MG. As culturas dos fungos foram obtidas da micoteca do Departamento de Fitopatologia e identificadas como *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani*. O método utilizado foi o bioanalítico “*in vitro*”, por meio do qual avaliaram-se os efeitos do óleo essencial (fresco) de *Cymbopogon citratus*, dos compostos citral e mircenol, e do fungicida comercial Folicur® (Tebuconazole 20% m/v, composto pertencente ao grupo dos triazóis Figura 12) em diferentes concentrações, sobre o crescimento e/ou inibição micelial das culturas fúngicas.

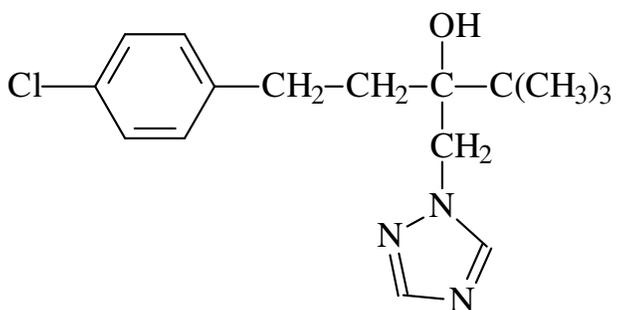


FIGURA 12 – Estrutura química do Tebuconazole (alfa-terc-butil-alfa-(p-clorofenil)-1 H – 1, 2, 4 – triazole – 1 – etanol).

O óleo essencial foi diluído em éter etílico e em uma capela asséptica de fluxo laminar, sendo incorporado ao meio de cultura BDA (batata, dextrose, agar) previamente esterilizados e fundidos a uma temperatura de 45–50°C, obtendo-se as concentrações de 100, 250, 500, 1000 e 1500 ppm. Preparou-se

um tratamento-controle com o BDA puro (testemunha absoluta) e outro com BDA mais éter etílico (testemunha relativa), para avaliação do efeito desse sobre os fitopatógenos.

Em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, previamente esterilizadas em forno específico por 90 minutos, foram adicionados aproximadamente 25 mL de meio de cultura com a concentração de óleo essencial correspondente. Após a solidificação, discos de aproximadamente 9 mm de diâmetros contendo micélios dos fungos (retirados de colônia com 15 dias em BDA) foram repicados para o centro das placas, as quais foram vedadas com filme plástico e colocadas em incubadora com “biological oxygen demand” (BOD) a 25 °C para os fitopatógenos *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gloeosporioides* e a 21 °C para *Rhizoctonia solani* e fotoperíodo de 12 horas. A medição do crescimento micelial das culturas de *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gloeosporioides* foi realizada no décimo dia após a inoculação dos fungos, e no sexto dia para *Rhizoctonia solani*. Para tal, foram traçadas duas retas pela placa de Petri passando pelo centro do disco de 9 mm: uma perpendicular à outra; as leituras foram realizadas pela medição do diâmetro de crescimento das colônias (médias de duas medidas diametralmente opostas) (Balbi-Peña et al., 2006). A porcentagem de inibição do crescimento micelial foi calculada para cada dosagem em relação à testemunha absoluta.

Para aplicação dos padrões de citral e mirceno, foi empregada a mesma metodologia utilizada na aplicação do óleo essencial, ao passo que, para a aplicação do Tebuconazole, as alterações ocorreram nas concentrações utilizadas, 1, 5, 10, 25, 50 e 100 ppm, e a diluição desse, feita em água destilada e esterilizada, não havendo, assim, a preparação de testemunhas relativas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Identificação e quantificação dos constituintes do óleo essencial

O óleo essencial de *Cymbopogon citratus* apresentou, entre outros compostos, o citral, constituído pela mistura isomérica de geranial (a) e neral (b), mirceno (c), (Z)-β-ocimeno (d), (E)- β-ocimeno (e), linalol (f) e 2-undecanona (g) conforme mostrado na Figura 13.

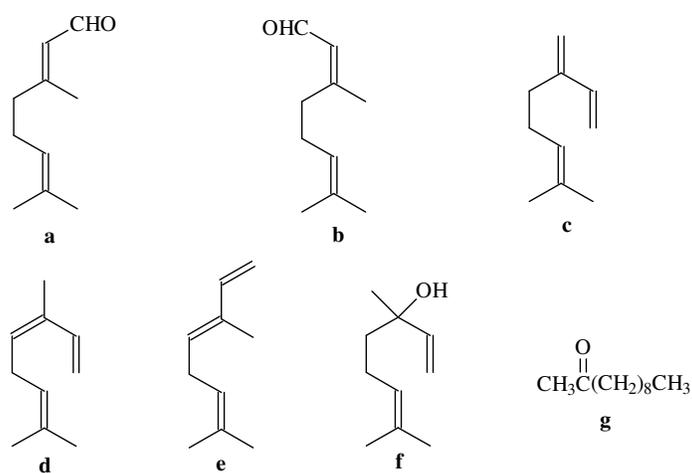


FIGURA 13 – Compostos identificados no óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*).

Esses compostos foram identificados por meio da comparação do índice de Kovat's (IK), calculados com os tabelados de acordo com Adams (1995), e dos espectros de massa obtidos, com os do banco de dados da biblioteca Wiley

229. Seus teores e seus índices de Kovat's calculados estão representados na Tabela 1.

Os componentes majoritários encontrados no óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (Tabela 1) e quantificados por normalização de áreas pela análise do cromatograma (em anexo) obtido por CG com detector FID foram o neral (31.89%) e geranial (37,42%), seguidos pelo mirceno (23.77%). Esses resultados estão de acordo com diversos autores, que afirmam a presença do citral como componente majoritário do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*.

TABELA 1 - Constituintes do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* identificados por CG/EM e seus respectivos teores.

| Constituintes | IK calculado | Teor (%) |
|-----------------------|---------------------|-----------------|
| Mirceno | 991 | 23.77 |
| (Z)- β -ocimeno | 1040 | 0.50 |
| (E)- β -ocimeno | 1051 | 0.28 |
| Linalol | 1199 | 0.82 |
| Neral | 1244 | 31.89 |
| Geranial | 1273 | 37.42 |
| 2-undecanona | 1292 | 0.27 |
| Outros | - | 5.87 |
| Total | | 100 |

Rauber et al. (2001) mostraram que, de acordo com o período de colheita, ocorria variação nas concentrações dos constituintes encontrados no óleo essencial de *Cymbopogon citratus*. O citral manteve-se como composto majoritário, com concentração de 74,7 a 80,9%, o mirceno, com teor de 8,7% a

13,1%; e o geraniol, com 1,7% a 3,7%; Concluíram que essas variações se devem não apenas às características genéticas das plantas, mas também às condições ambientais e características de cultivo.

Cimanga et al. (2002) trabalharam com óleo essencial de *Cymbopogon citratus*, cultivado na República Democrática do Congo, e encontraram teores consideráveis de limoneno (3,1%) e nerol (12,5%), compostos que não foram identificados no óleo estudado. Nesse mesmo período, Martins et al. (2002) estudaram o efeito da secagem sobre o teor de citral e encontraram uma proporção de 61,5% desse no óleo.

Kanko et al. (2004) avaliaram as propriedades físico-químicas do óleo essencial de plantas de *Cymbopogon citratus* cultivadas em Abidjan (Costa do Marfim), e encontraram o mirceno como componente principal na concentração de 67%. Costa et al. (2005) estudaram o rendimento do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* e identificaram por CG/EM vários compostos não identificados no óleo estudado, tais como 6-metil-5-hepten-2-ona, geraniol, epóxido linalolóxido e tridecanona; esses pesquisadores não detectaram a presença de mirceno, (Z)- β -ocimeno e (E)- β -ocimeno, entretanto, citam o citral como constituinte majoritário.

4.2 Avaliação da estabilidade

Pelos resultados obtidos na avaliação da estabilidade do óleo essencial de capim-limão (*C. Citratus*), verificou-se que houve efeito significativo dos fatores luz e tempo e também da interação desses fatores sobre as porcentagens de citral e mirceno. Por meio dessa interação, observou-se a existência da variação do teor de citral e mirceno, dependendo da presença ou ausência de luz e do tempo de exposição. Constatou-se uma redução no teor médio de mirceno e citral com o decorrer do tempo, variando em relação à presença/ausência da luz.

Observando os dados descritos na Tabela 2, verifica-se que não houve variação significativa no teor de citral entre os tratamentos nos primeiros quinze dias; a diferença pode ser observada a partir de trinta a sessenta dias, não sendo observada com setenta e cinco dias, voltando a ser observada novamente no período de noventa até cento e vinte dias.

Entretanto, analisando os teores de mirreno apresentados na Tabela 3, constata-se uma variação significativa com quinze dias de exposição até setenta e cinco dias; após esse período não houve variação, sendo essa observada novamente no período entre noventa e cento e vinte dias.

TABELA 2 - Resultados médios do teor de citral no óleo essencial de *Cymbopogon citratus*, com relação ao tempo, submetido à presença ou ausência de luz.

| Tempo (dias) | Tratamentos | |
|-------------------------|--------------------|-----------------|
| | Presença | Ausência |
| 0 | 74,72 a | 74,72 a |
| 15 | 68,73 a | 69,67 a |
| 30 | 63,02 a | 67,23 b |
| 45 | 61,36 a | 65,04 b |
| 60 | 59,53 a | 62,56 b |
| 75 | 56,67 a | 58,89 a |
| 90 | 51,88 a | 55,41 b |
| 105 | 43,96 a | 52,62 b |
| 120 | 40,42 a | 50,59 b |

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%

TABELA 3 - Resultados médios do teor de mirceno no óleo essencial de *Cymbopogon citratus*, com relação ao tempo, submetido à presença ou ausência de luz.

| Tempo (dias) | Tratamentos | |
|-----------------|-------------|----------|
| | Presença | Ausência |
| 0 | 18,76 a | 18,76 a |
| 15 | 14,47 a | 16,13 b |
| 30 | 13,80 a | 15,40 b |
| 45 | 12,51 a | 14,51 b |
| 60 | 11,65 a | 13,81 b |
| 75 | 9,89 a | 11,78 a |
| 90 | 8,37 a | 11,31 b |
| 105 | 6,30 a | 9,34 b |
| 120 | 5,08 a | 8,91 b |

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%

Nas Figuras 14 e 15 observa-se, pela análise de regressão, o decréscimo dos teores de citral e mirceno no óleo essencial em relação ao tempo e na presença /ausência de luz. Analisando os coeficientes angulares das equações para o decréscimo do teor de citral e mirceno, observou-se que, para os dois compostos, os coeficientes angulares na presença de luz foram maiores (0,265 para o citral e 0,103 para o mirceno), o que evidencia uma maior taxa de degradação dos compostos na presença de luz.

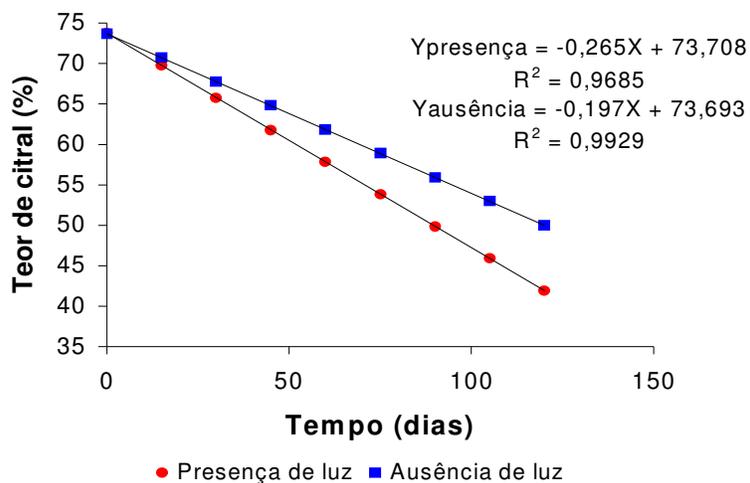


FIGURA 14 - Decréscimo dos teores de citral no óleo essencial de *Cymbopogon citratus* em relação ao tempo e à presença /ausência de luz.

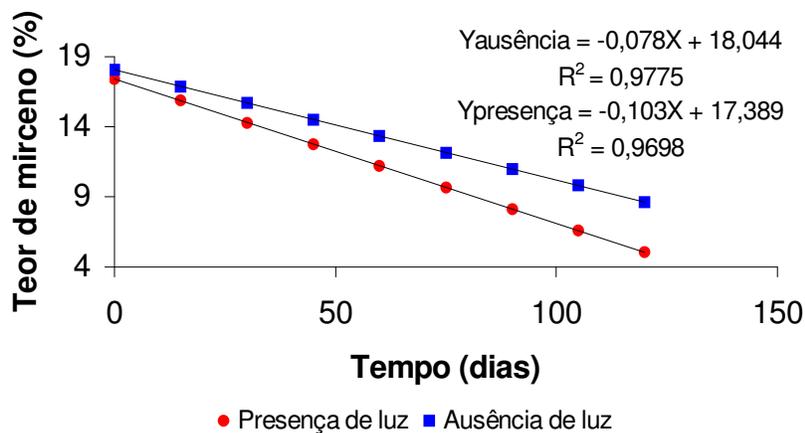


FIGURA 15 - Decréscimo dos teores de mirceno no óleo essencial de *Cymbopogon citratus* em relação ao tempo e à presença /ausência de luz.

Na avaliação da estabilidade dos constituintes majoritários do óleo essencial em relação à temperatura, observou-se uma variação significativa para as variáveis temperatura e tempo, para os dois compostos analisados; no entanto, a interação entre o tempo e a temperatura não foi significativa para o citral.

Não se observou variação significativa para a degradação do citral entre as temperaturas alta e baixa, ambiente e alta; no entanto, observou-se variação apenas entre as temperaturas baixa e ambiente. No entanto para o mirceno, observou-se variação significativa entre todas as temperaturas.

Analisando os dados da Tabela 4, constatou-se que o teor de citral decresceu com o tempo; porém, não houve diferença em relação às temperaturas.

TABELA 4 - Resultados médios do teor de citral no óleo essencial de *Cymbopogon citratus*, com relação ao tempo e à temperatura.

| Tempo (dias) | Temperatura | | |
|-----------------|-------------|-----------|-----------|
| | Baixa | Ambiente | Alta |
| 0 | 74,72 a | 74,72 a | 74,72 a |
| 15 | 73,69 a | 69,67 a b | 72,75 b |
| 30 | 68,46 a b | 67,23 a | 71,19 b |
| 45 | 63,94 a | 65,04 a | 65,16 a |
| 60 | 61,84 a | 62,56 a | 61,54 a |
| 75 | 60,13 a | 58,89 a | 57,24 a |
| 90 | 58,00 a | 55,41 a | 55,96 a |
| 105 | 56,54 b | 52,62 a | 54,10 a b |
| 120 | 55,35 b | 50,59 a | 51,70 a b |

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

De acordo com os dados da Tabela 5, o teor de mirceno decresceu em relação ao tempo e apresentou variação significativa em relação às temperaturas

no período de quinze a sessenta dias e de noventa a cento e vinte dias. No entanto, não houve variação entre as temperaturas baixa e ambiente no período entre sessenta e setenta e cinco dias.

Avaliando a análise de regressão representada na Figura 16 para os teores de citral em relação ao tempo e à temperatura, observou-se uma proximidade nos valores dos coeficientes angulares das equações, representadas para cada temperatura, mostrando que o decréscimo no teor de citral foi similar para todas as temperaturas. A variação do teor de mirceno em relação às temperaturas pode ser observada na Figura 17, na qual constata-se uma diferença nos coeficientes angulares, observando-se um maior valor para alta temperatura (0,111), seguido da temperatura ambiente (0,078) e da temperatura baixa (0,066).

TABELA 5 - Resultados médios do teor de mirceno no óleo essencial de *Cymbopogon citratus*, com relação ao tempo e à temperatura.

| Tempo (dias) | Temperatura | | |
|-----------------|-------------|----------|---------|
| | Baixa | Ambiente | Alta |
| 0 | 18,76 a | 18,76 a | 18,76 a |
| 15 | 17,64 c | 16,13 b | 15,03 a |
| 30 | 16,93 c | 15,40 b | 13,52 a |
| 45 | 16,06 c | 14,50 b | 12,27 a |
| 60 | 61,84 b | 13,81 b | 10,40 a |
| 75 | 12,85 b | 11,78 b | 8,61 a |
| 90 | 12,65 c | 11,31 b | 6,76 a |
| 105 | 12,05 c | 9,34 b | 5,92 a |
| 120 | 10,92 c | 8,91 b | 4,83 a |

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

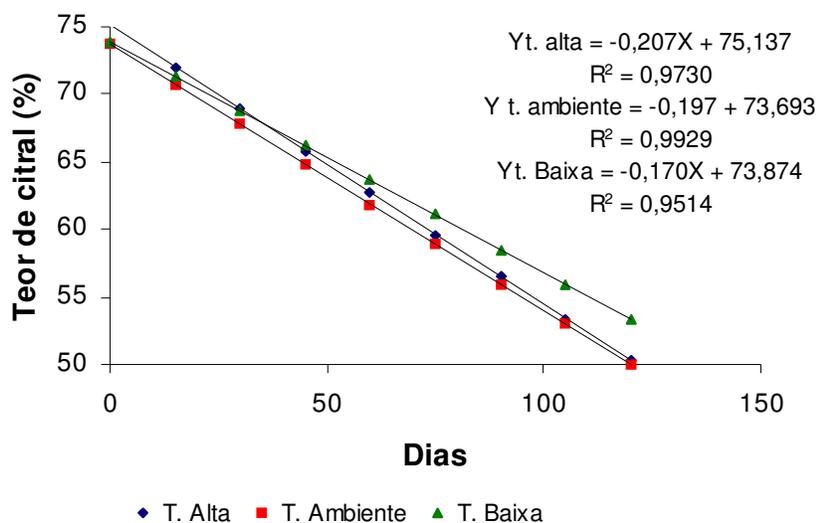


FIGURA 16 - Decréscimo dos teores de citral no óleo essencial de *Cymbopogon citratus* em relação à temperatura.

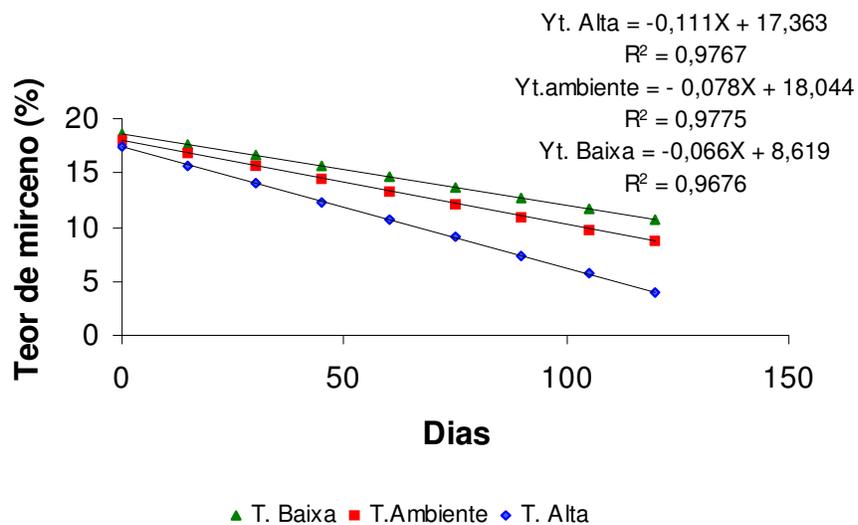


FIGURA 17 - Decréscimo dos teores de mirceno no óleo essencial de *Cymbopogon citratus* em relação à temperatura.

Considerando os resultados apresentados acima, pode-se inferir que os compostos mirceno e citral sofreram degradação em relação ao tempo. No entanto, essa degradação ocorreu tanto na ausência quanto na presença de luz, sendo em maior intensidade quando em presença de luz. Em relação à temperatura, observou-se influência dessa apenas sobre a degradação do mirceno. Apesar de ter ocorrido degradação, não se observou variação para o citral, revelando a estabilidade desse perante essas temperaturas.

O espectro no infravermelho, obtido da análise do óleo essencial fresco (Figura 18), apresentou bandas características dos grupos funcionais que caracterizam o óleo essencial de capim-limão: uma banda forte entre 3000-2800 cm^{-1} característica dos grupos metílicos (CH_3), metilênicos (CH_2) e metínicos (CH), podendo ser confirmados pela presença de um dubleto em 1380 e 1360 cm^{-1} equivalente a sinais de deformação angular desses grupos e que propõem a presença de ramificações alquílicas; entre 1700-1600 cm^{-1} , observa-se uma banda forte característica do grupo carbonila; e uma pequena banda próxima a 1850 cm^{-1} característica dos alquenos conjugados; uma banda próxima a 1650 cm^{-1} , característica de alquenos cis-dissubstituídos e com grupos vinilideno (Silverstein & Webster, 2000).

Comparando o espectro do óleo essencial fresco com os espectros do óleo essencial submetido aos tratamentos, observaram-se as seguintes modificações: o aumento significativo da banda próxima a 3400 cm^{-1} , evidenciando o aparecimento de grupos OH; um aumento no número de bandas próximas a 1700 cm^{-1} , que pode ser devido à presença de ligações duplas carbono-oxigênio de ácidos carboxílicos, e de peróxidos de acila; um alargamento das bandas próximas a 1250 cm^{-1} e 1400 cm^{-1} , em decorrência da deformação axial e angular de carbono-oxigênio, respectivamente (Silverstein & Webster, 2000).

O espectro do óleo essencial submetido à luz está apresentado na Figura 19, e os espectros do óleo submetido às diferentes temperaturas encontram-se no Anexo B.

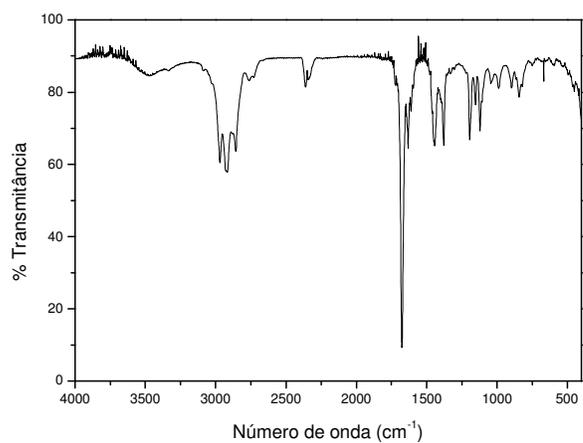


FIGURA 18 - Espectro no infravermelho do óleo essencial fresco de *Cymbopogon citratus*.

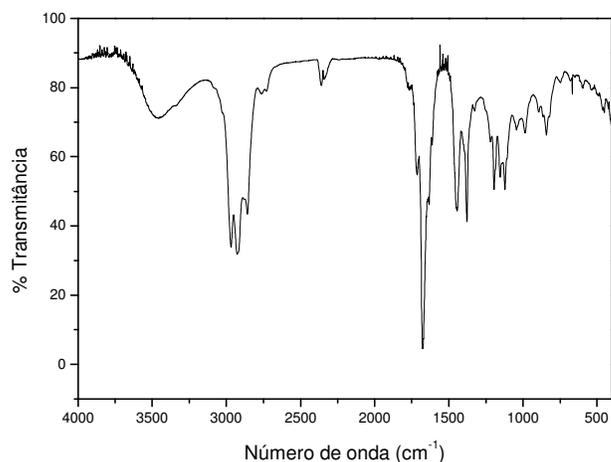


FIGURA 19 - Espectro no infravermelho do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* submetido à luz.

Compostos orgânicos quando, na presença de energia (que pode ser por aquecimento ou pela irradiação de luz), podem gerar radicais em decorrência da quebra homolítica de ligações químicas. Esses radicais podem reagir com outras moléculas, gerando novos radicais, e com o oxigênio atmosférico, gerando peróxidos, hidroperóxidos, que são compostos instáveis capazes de ser quebrados em novos radicais ainda mais reativos (Solomons, 2001).

Na presença de radicais livres, o oxigênio pode atacar estruturas carbônicas insaturadas, especialmente na posição alílica (Hendrickson et al., 1970). Os compostos citral e mirceno possuem em suas estruturas carbonos alílicos.

De acordo com Barbosa (2004), reações de origem radicalar ocorrem em compostos que possuem carbono alílico, por meio da perda de um hidrogênio desse carbono, pois o radical alílico é estabilizado por estruturas de ressonância desse com a ligação dupla presente no carbono vizinho. Assim, a degradação

observada para os compostos estudados, mesmo na ausência de luz e em baixas temperaturas, pode ter ocorrido por processos radicalares, derivados da perda de um hidrogênio alílico.

O processo de autoxidação desses compostos pode ser semelhante ao apresentado por Ramalho & Jorge (2006) para a autoxidação de ácidos graxos, que se inicia com a retirada de um hidrogênio alílico do composto, em condições favorecidas por luz e calor, gerando um radical alílico. Em seguida, esses radicais podem reagir com oxigênio do ar atmosférico e formar radicais peróxidos que, posteriormente, podem ser convertidos em hidroperóxidos, que vão atuar como propagadores da reação, que terá o seu fim com a combinação desses para a formação de produtos estáveis. O mecanismo para a degradação do geranial via autoxidação está representado na Figura 20.

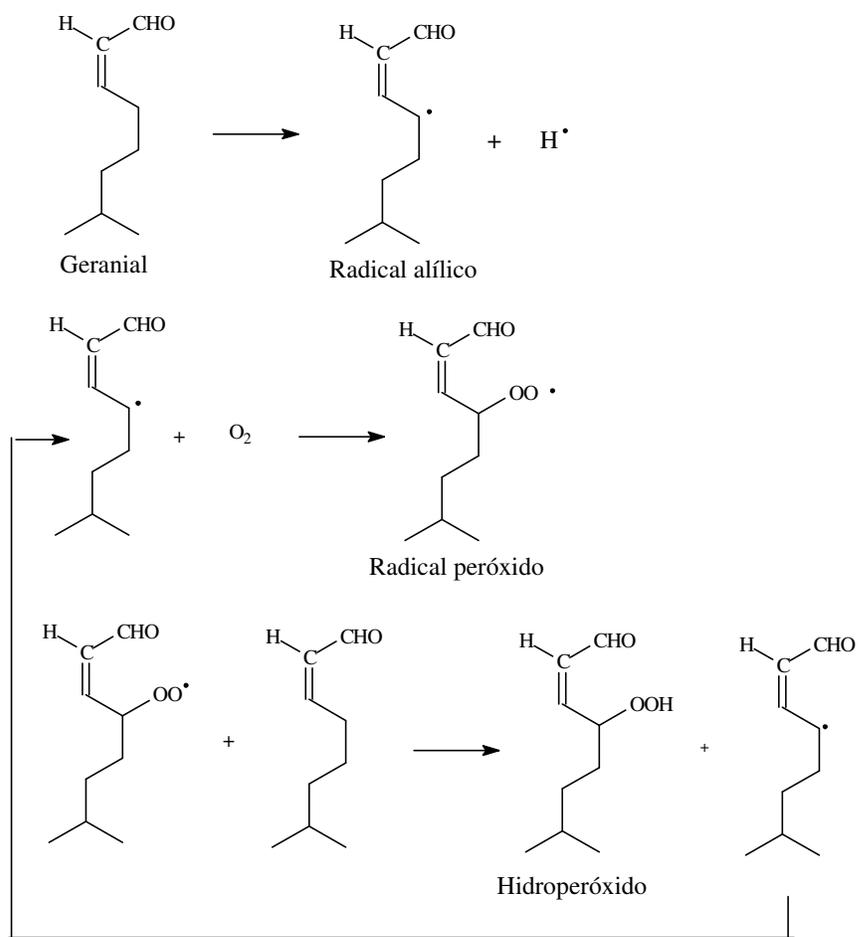


FIGURA 20 - Mecanismo da degradação do geranial via autoxidação.

Compostos carbonílicos podem sofrer reações de fotólise quando expostos à luz, dando origem a vários produtos, inclusive radicais livres (Hendrickson et al., 1970; Pryor, 1966). Essa afirmação é coerente com o fato de o citral apresentar uma maior taxa de degradação quando na presença de luz.

Duas das diversas reações de decomposição possíveis para o geranial estão apresentadas na Figura 21.

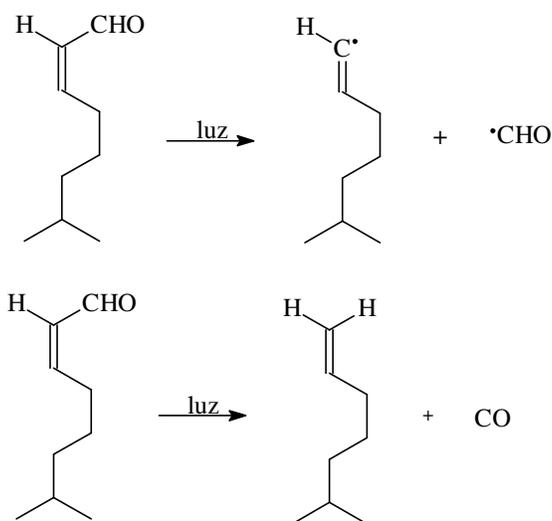


FIGURA 21 - Decomposição do geranial na presença de luz.

O grupo carbonílico de aldeídos é facilmente oxidado, mesmo à temperatura ambiente. Dessa forma, aldeídos podem ser oxidados pelo oxigênio do ar a ácidos carboxílicos e perácidos (Figura 22) (Allinger et al., 1976; Ege, 1994).

Segundo Hendrickson et al. (1970), compostos carbonílicos, quando na presença de luz, podem adicionar-se a alquenos, originando oxetanos. Esse processo pode ter ocorrido entre o citral e o mirceno.

De acordo com Barbosa (2004), os alquenos que possuem ligações duplas pouco substituídas podem se polimerizar na presença de radicais, pois esses se adicionam ao alqueno formando um novo radical alquila, reagindo esse

com outras moléculas de alqueno, originando um radical polimérico; esta etapa é denominada de etapa de propagação. O término dessa etapa ocorre quando esses radicais reagem de maneira a formar compostos estáveis. Compostos insaturados também podem sofrer reações fotoquímicas de cicloadição, sendo essas reações observadas em muitos dienos conjugados, resultando na formação de diversos produtos (Hendrickson et al., 1970)

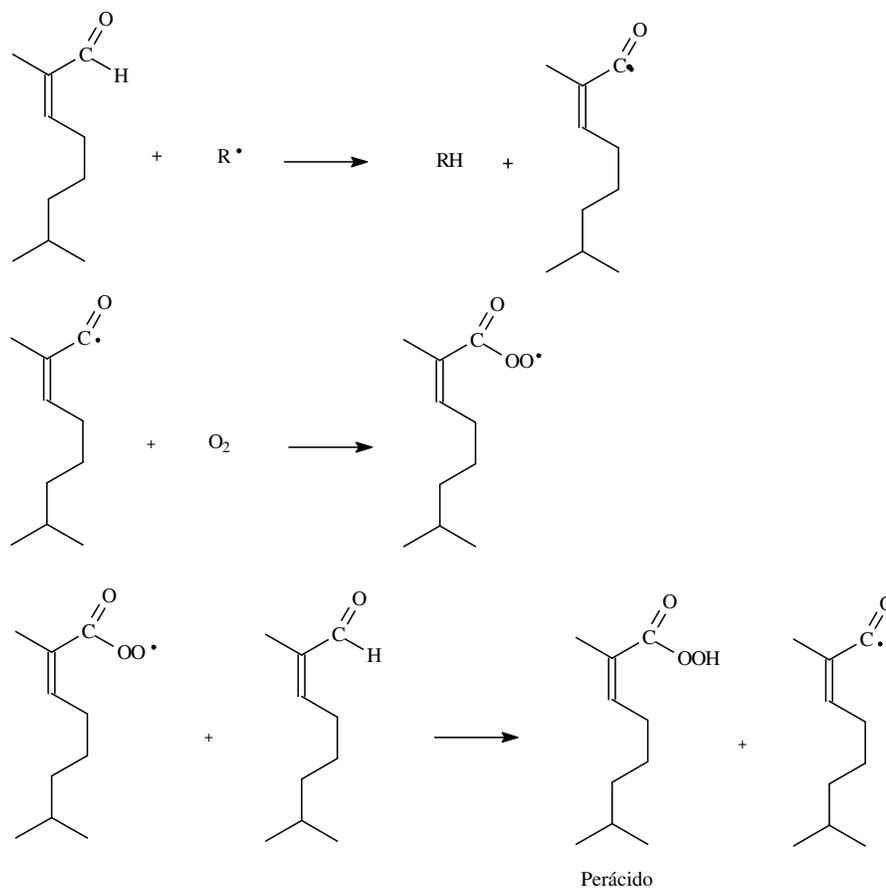


FIGURA 22 - Oxidação do geranial a perácido.

Essas reações provavelmente estão envolvidas no processo de decomposição do mirceno, pois de Virmani et al. (1979) afirmam que o mirceno se polimeriza quando exposto ao ar e à luz.

4.3 Atividade Biológica

As propriedades fungitóxicas do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e de seus constituintes majoritários, citral e mirceno, foram avaliadas e comparadas com o fungicida comercial Folicur®, sobre o crescimento e/ou inibição micelial dos fitopatógenos *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Fusarium oxysporum*. A inibição micelial das três espécies fúngicas foi calculada em relação ao crescimento micelial da testemunha absoluta de cada espécie. O crescimento micelial da testemunha relativa de cada espécie não diferenciou significativamente de sua testemunha absoluta. Os resultados estão apresentados nas Figuras 23, 24 e 25.

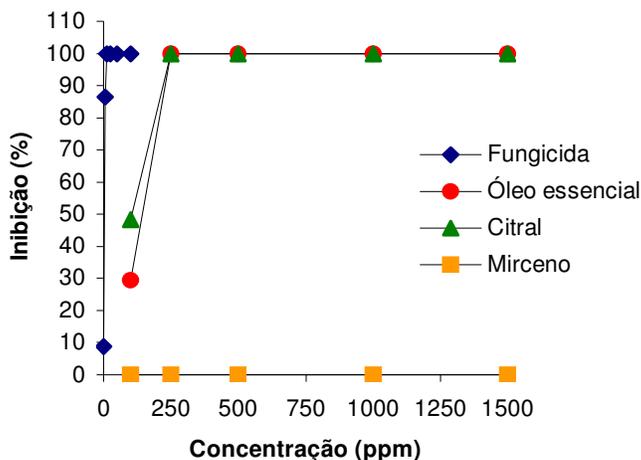


FIGURA 23 - Efeito das concentrações do óleo essencial de *C. citratus*, citral, mirceno e tebuconazole, sobre a inibição do crescimento micelial de *Rhizoctonia solani*

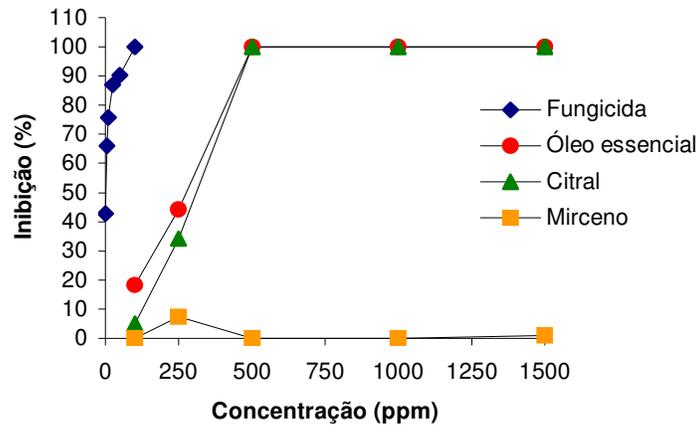


FIGURA 24 - Efeito das concentrações do óleo essencial de *C. citratus*, citral, mirceno e tebuconazole sobre a inibição do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum*

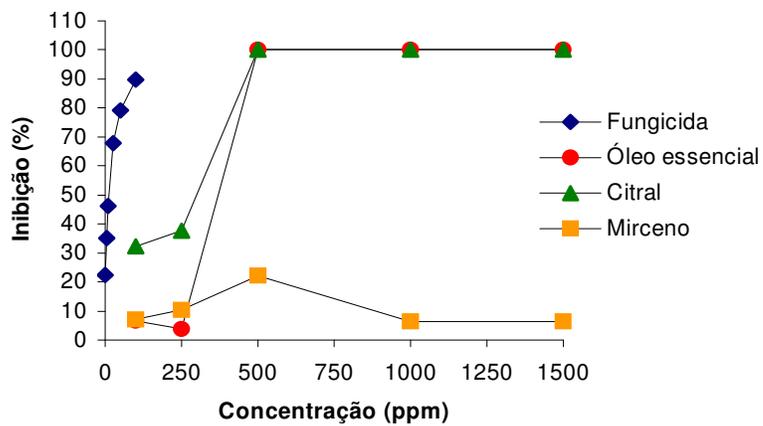


FIGURA 25 - Efeito das concentrações do óleo essencial de *C. citratus*, citral, mirceno e tebuconazole sobre a inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*

O óleo essencial apresentou efeito inibitório de 29,32%, 18,28% e 6,57% na concentração de 100 ppm, sobre o crescimento micelial de *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Fusarium oxysporum* respectivamente. A concentração mínima inibitória encontrada foi 250 ppm para o fungo *Rhizoctonia solani*, e de 500 ppm para os demais.

Fiori et al. (2000) demonstraram o efeito fungitóxico do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* sobre o crescimento micelial de *Didymella bryoniae*. Esses pesquisadores observaram que a concentração de 1% do óleo no meio de cultura foi capaz de inibir totalmente o crescimento desse. Paranagama et al. (2003) estudaram o efeito biológico do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*, e encontraram efeitos fungistático e fungicida sobre *Aspergillus flavus* nas concentrações de 0,6 e 1,0 mg. mL⁻¹. Observaram que o efeito sobre a esporulação do fungo causou a completa inibição na concentração de 2,8 mg.mL⁻¹.

Fandohan et al. (2004) avaliaram a atividade antifúngica “*in vitro*” e “*in vivo*” do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* sobre *Fusarium verticillioides*, e constataram uma concentração mínima inibitória para o crescimento micelial do fungo de 1,3 µL/mL. Para o teste “*in vivo*”, após 21 dias, observaram uma redução significativa da incidência do fungo (<20%) na concentração de 4,0 µL/mL, ocorrendo completa inibição na concentração de 8,0 µL/mL.

Pelos resultados encontrados para o padrão de citral sobre os fungos *Rhizoctonia solani* e *Colletotrichum gloeosporioides*, verificou-se um maior efeito fungitóxico em comparação ao óleo essencial nas concentrações de 100 ppm para ambos e 250 ppm para o *Colletotrichum gloeosporioides*. No entanto, a concentração mínima inibitória encontrada para o citral foi a mesma encontrada para o óleo essencial sobre os dois fitopatógenos.

Quanto ao mirceno, não houve atividade inibitória sobre *Rhizoctonia solani*. No entanto, verificou-se uma baixa atividade na concentração de 100

ppm sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, havendo um aumento de sua atividade inibitória até a concentração de 500 ppm, apresentando 22,17% de inibição micelial. Para as concentrações de 100 e 1500 ppm, o composto apresentou uma pequena atividade inibitória, ou seja apenas 6% do crescimento micelial.

O citral nas concentrações de 100 ppm e 250 ppm apresentou menor atividade em comparação ao óleo essencial nessas mesmas concentrações sobre *F. oxysporum*, já o mirceno apresentou uma pequena inibição (7,26%) apenas quando presente na concentração de 250 ppm. No entanto, a concentração mínima inibitória encontrada para o citral foi a mesma do óleo essencial (500 ppm).

Considerando esses resultados, pode-se inferir que o citral é o composto responsável pela atividade fungitóxica do óleo essencial de *C. citratus* sobre *Rhizoctonia solani* e *Colletotrichum gloeosporioides*.

Esses resultados corroboram com vários trabalhos nos quais se verifica a atividade biológica do citral. Ming et al. (1996) atribuíram ao citral atividade germicida contra 22 microrganismos, além de poder ser utilizado como larvicida e repelente de insetos. Oyedele et al. (2002) observaram a ação repelente do citral contra *Aedes aegypti* L.. Estudos feitos por Matsura et al. (2006) afirmaram que o citral apresentou atividade inibitória sobre a tironsinase, enzima largamente encontrada em microrganismos, animais e vegetais, e importante na síntese de o-difenóis e o-quinonas.

O mecanismo de ação do citral ainda não está completamente esclarecido. Estudos de Kurita et al. (1981) citam que a atividade fungicida do citral é devida à sua capacidade de receber elétrons provenientes da célula do fungo, por meio de uma transferência de carga com um elétron doador presente nessa célula, resultando, assim, na morte do fungo. De acordo com Piper et al. (2001), determinados terpenos presentes nos óleos essenciais são capazes de

tornarem a membrana celular do fungo permeável, causando o vazamento de seu conteúdo.

Na comparação do efeito fungitóxico do fungicida comercial (tebuconazole), com o óleo essencial e seus principais constituintes, observa-se que são necessárias concentrações muito maiores do óleo essencial e do citral para causarem efeito semelhante ao do tebuconazole, para os três fitopatógenos. Concomitantemente, para que o óleo essencial de *Cymbopogon citratus* e o seu constituinte majoritário possam ser utilizados como fungicidas comerciais, são necessários mais estudos, tais como avaliar os seus efeitos sobre a inibição de germinação e produção de esporos, suas atividades em campo, entre outros.

Os bioensaios realizados com o óleo essencial sobre as espécies fúngicas estudadas estão ilustrados nas Figuras 26, 27 e 28.

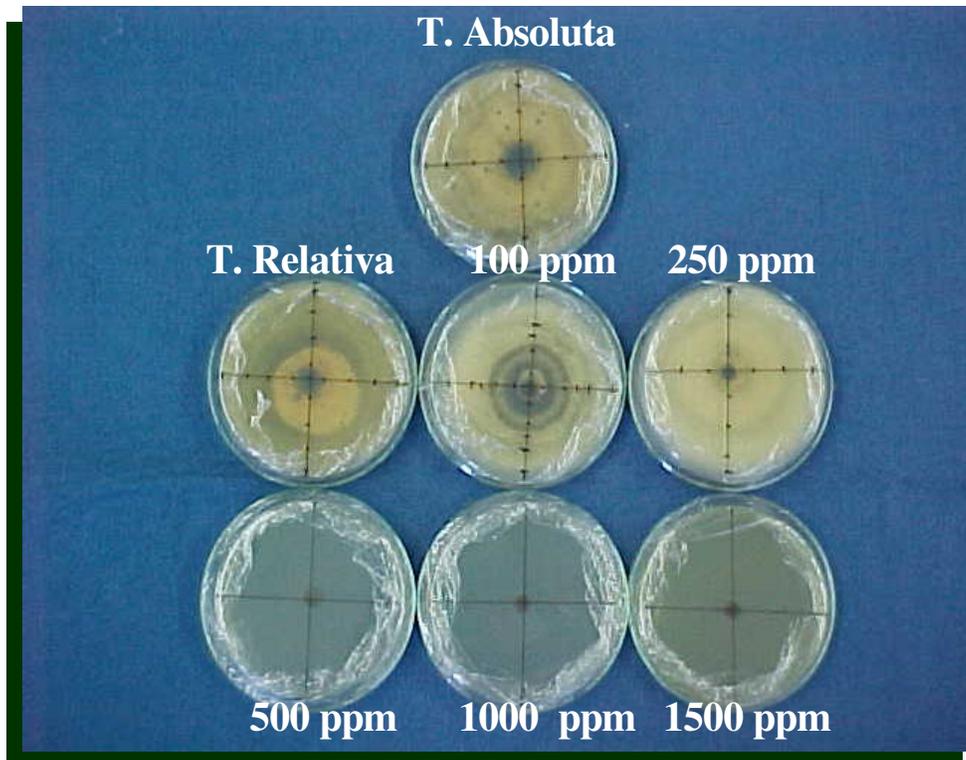


FIGURA 26 – Bioensaio realizado com óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) sobre o crescimento e/ou inibição micelial do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*

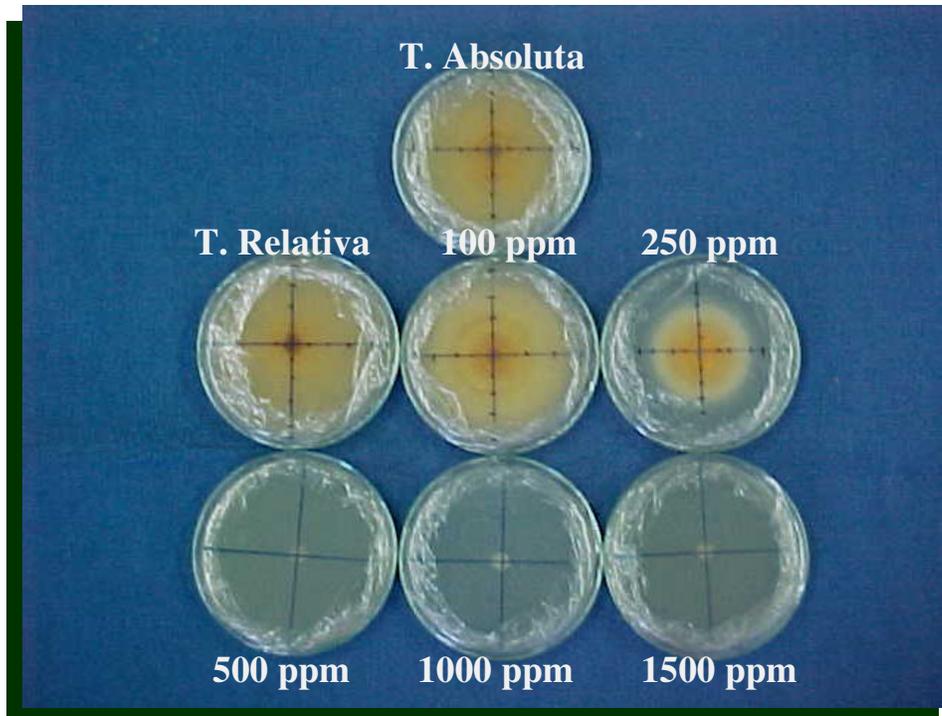


FIGURA 27 – Bioensaio realizado com óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) sobre o crescimento e/ou inibição micelial do fungo *Fusarium oxysporum*

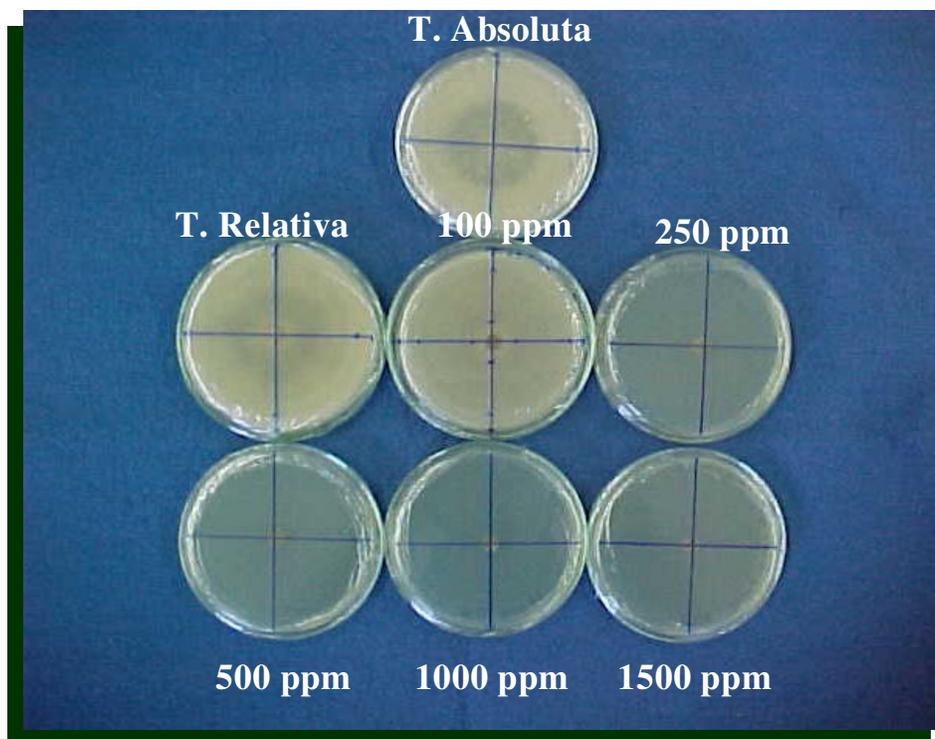


FIGURA 28 – Bioensaio realizado com óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) sobre o crescimento e/ou inibição micelial do fungo *Rhizoctonia solani*

5 CONCLUSÕES

Os constituintes majoritários do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) foram o citral e o mirceno. Esses sofreram degradação em relação ao tempo, tanto na presença quanto na ausência de luz. Em relação à temperatura, observou-se influência dessa apenas sobre a degradação do mirceno. Apesar de ter ocorrido degradação, não se observou variação para o citral, revelando a estabilidade desse constituinte nessas temperaturas.

O crescimento micelial do fungo *Rhizoctonia solani* foi totalmente inibido na concentração de 250 ppm e dos fungos *Colletotrichum gloeosporioides* e *Fusarium oxysporum* na concentração de 500 ppm, inferindo que o citral seja o responsável por tal ação sobre os fungos *Rhizoctonia solani* e *Colletotrichum gloeosporioides*, já que não foi observada atividade fungitóxica significativa para o mirceno.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEGAZ, B.; YOHANNES, P. G. Constituents of the essential oil of Ethiopian *Cymbopogon citratus*. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 46, n. 3. p. 424-426. 1983.

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy**. Carol Stream: Allured, 1995. 469 p.

AL-BURTAMANI, S. K. S.; FATOPE, M. O.; MARWAH, R. G.; ONIFADE, A. K.; AL-SAIDI, S. H. Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of the essential oil of *Haplophyllum tuberculatum* from Oman. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 96, n. 1/2, p. 107-112, Jan. 2005.

ALEXOPOULOS, C. J.; MILMS, C. W.; BLACKWEEL, W. **Introductory mycology**. 4. ed. New York: John Wiley & Sons, 1996.

ALLINGER, N. L.; CAVA, M. P.; JONGH, D. C.; JOHNSON, C. R.; LEBEL, N. A.; STEVENS, C. L. **Química orgânica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Editora Livros Técnicos e Científicos, 1976. 961 p.

ALVES, H. M. A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos. **Caderno Temático de Química Nova na Escola**, São Paulo, n 3, Mar. 2001.

BAILEY, J. A.; O'CONNELL, R. J.; PRING, R. J.; NASH, C. Infection strategies of *Colletotrichum* species. In: BAILEY, J. A.; JEGGER, M. J. (Ed.) *Colletotrichum: biology, pathology and control*. Wallingford: CAB International, 1992. p. 88-120.

BALBI-PEÑA, M. I.; BECKER, A.; STANGARLIN, J. R.; FRANZENER, G.; LOPES, M. C.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e Curcumina – I. avaliação *in vitro*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 3, p. 310-314, maio/jun. 2006.

BARBOSA, L. C. A. **Introdução à Química Orgânica**. São Paulo: Ed. Prentice Hall, 2004. 311 p.

BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, 919 p.

BOTELHO, S. A.; RAVA, C. A.; LEANDRO, W. M.; COSTA, J. L. S. Supressividade natural de solos da região centro-oeste a *Rhizoctonia solani* Kuhn. **Pesquisa Agrapecuaria Tropical**, Goiano, v. 31, n. 2. p. 105-110, jul./dez. 2001.

CAKIR, A.; KORDALI, S.; KILIC, H.; KAYA, E. Antifungal properties of essential oil and crude extracts of *Hypericum linarioides* Bosse. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 33, n. 3, p. 245-256, Mar. 2005.

CARVALHO, C. M.; COSTA, C. P. M.; SOUSA, J. S.; SILVA, R. H. D.; OLIVEIRA, C. L.; PAIXÃO, F. J. R. Rendimento da produção de óleo essencial de Capim-santo submetido a diferentes tipos de adubação. **Revista da Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, v. 5, n. 2, p. 1-8, 2005.

CASTRO, D. P.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; SANTOS, N. M.; BALIZA, D. P. Não-preferência de *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera: Noctuidae) por óleos essenciais de *Achillea millefolium* L. e *Thymus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 4, p. 27-32, 2006.

CASTRO, H. G. de; FERREIRA, F. A. A; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R. **Metabólitos Secundários** – Contribuição ao Estudo das Plantas Mediciniais. 2^a ed. Visconde do rio Branco: SUPREMA, 2004. 113 p.

CASTRO, L. O. de; RAMOS, R. L. D. **Principais Gramíneas Produtoras de Óleos Essenciais**: capim-cidrô, *Cymbopogon martinii* (Rox.) J. F. Watson, palma-rosa, *Cymbopogon nardus* (L.) rendle, citronela, *Elyonurus candidus* (Trin.) Hack., capim-limão, *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash, vetiver. Porto Alegre: FEPAGRO, 2003. 32 p. (Boletim FEPAGRO, 11).

CASTRO, N. E. A. **Caracterização Fitoquímica de Óleos Essenciais de Eucalipto e seu Efeito Sobre o Protozoário Tripanosomatídeo *Herpetomonas samuelpessoai***. 2006. 82 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 99-105, jan./fev. 1998.

CIMANGA, K.; KAMBU, K.; TONA, L.; APERS, S.; BRUYNE, T.; HERMANS, N.; TOTTE, J.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A. J. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 79, n. 2, p. 213-220, Feb. 2002.

COSTA, L. C. do B.; CORRÊA, R. M.; CARDOSO, J. C. W.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; FERRI, P. H. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim-limão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 4, p. 956-959, dez. 2005.

CORRÊA JUNIOR, C.; MING, L. L.; SCHEFFER, M. C. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 1994.

CORREIA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984. 747 p.

DE-OLIVEIRA, A. C. A. X.; RIBEIRO-PINTO, L. F.; OTTO, S. S.; GONÇALVES, A.; PAUMGARTTEN, F. J. R. Induction of liver monooxygenases by β -myrcene. **Toxicology**, Clare, v. 124, n. 2, p. 135-140, Dec. 1997a.

DE-OLIVEIRA, A. C. A. X.; RIBEIRO-PINTO, L. F.; PAUMGARTTEN, F. J. R. In vitro inhibition of CYP2B1 monooxygenase by β -myrcene and other monoterpene compounds. **Toxicology Letters**, Clare, v. 92, n. 1, p. 39-46, June 1997b.

EGE, S. **Organic chemistry**. 3. ed. D. C. Heath and Company, 1994. 1355 p.

EL FATTAH, M. A.; EL ZAHWEY; HARIDY, I. M.; EL DEEB, S. A. Effect of drying on the physicochemical properties and composition of lemongrass oil. **Menofiya Journal Agricultural Research**, v. 17, n. 3, p. 1211-1230, 1992.

FANDOHAN, P.; GBENOU, J. D.; GNONLONFIN, B.; HELL, K.; MARASAS, W. F. O.; WINGFIELD, M. J. Effect of essential oils on the growth of *Fusarium verticillioides* and Fumonisin contamination in corn. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 22, p. 6824-6829, Nov. 2004.

FIGUEIREDO, R. O. de; DELACHIAVE, M. E. A.; MING, L. C. Effect of growth regulators in citral content in lemongrass in different seasons. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 569, n. 22, p. 47-49, Nov. 2002.

FIORI, A. C. G.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; VIDA, J. B.; SCAPIM, C. A.; CRUZ, M. E. S.; PASCHOLATI, S. F. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. **Journal of the Phytopathology**, Berlin, v. 148, n. 7-8, p. 483-487, Aug. 2000.

GODOY, P.; COLOMBO, A. L. Biologia e Relevância Clínica das espécies do Gênero *Fusarium spp.* **Prática Hospitalar**, São Paulo, v. 11, n. 34, p. 136-140, 2004.

GUARRO, J.; GENE, J. *Fusarium* infections criteria for the identification of the responsible species. **Mycoses**, Berlin, v. 35, n. 5/6, p. 109-114, May/June 1992.

HENDRICKSON, J. B.; CRAM, D. J.; HAMMOND, G. S. **Organic chemistry**. 3. ed. New York: Mcgraw-Hill Book Company, 1970. 1279 p.

IJIMA, Y.; WANG, G.; FRIDMAN, E.; PICHERSKY, E. Analysis of the enzymatic formation of citral in the glands of sweet basil. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 44, n. 448, p. 141-149, Apr. 2006.

JUNQUEIRA, N. T. V.; ANJOS, J. R. N.; JUNQUEIRA, L. P.; SHARMA, R. D. Principais doenças e pragas. In: MANICA, I. **Maracujá doce**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2005. p. 113-144.

KANKO, C.; SAWALIHO, B. E.; KONE, S.; KOUKOUA, G.; N'GUESSAN, T. Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus*. **Comptes Rendus Chimie**, Paris, v. 7, p. 1039-1042, Oct./Nov. 2004.

KIKONYOGO, A.; ABRIOLA, D. P.; DRYJANSKI, M.; PIETRUSZKO, R. Mechanism of inhibition of aldehyde dehydrogenase by citral, a retinoid antagonist. **European Journal of Biochemistry**, Oxford, v. 262, n. 3, p. 704-712, June 1999.

KURITA, N.; MIYAJI, M.; KURANE, R.; TAKAHARA, Y. Antifungal activity of components of essential oils. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 45, n. 4, p. 945-952, Apr. 1981.

LACAZ, C. S.; PORTO, C.; MARTINS, J. E. C. **Guia para identificação: fungos Actinomicetos e Algas**. São Paulo: Sarvier, 1998.

LEAL, T. C. A. de B.; FREITAS, S. P.; SILVA, J. F.; CARVALHO, A. J. C. Avaliação do efeito da variação estacional e horário de colheita sobre o teor foliar de óleo essencial de capim-cidreira (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 48, n. 278, p. 445-453, jul./ago. 2001.

LEWINSOHN, E.; DUDAI, N.; TADMOR, Y.; KATZIR, I.; RAVID, U.; PUTIEVSKY, E.; JOEL, D. M. Histochemical localization of citral accumulation in lemongrass leaves (*Cymbopogon citrates* (DC) Stapf., Poaceae). **Annals of Botany**, London, v. 81, n. 1, p. 35-39, Jan. 1998.

LIMA, M. I. PM.; GASPOROTO, L.; SANTOS, A. **Controle químico da antracnose do Maracujazeiro**. Manaus: EMBRAPA-MARA, 1993. (Comunicado técnico, 05).

LINS, S. R. O. **Estudos Histopatológicos da Mancha Manteigosa em Cafeeiro (*Coffea arábica* L.) e Comportamento de Isolados de *Colletotrichum* spp. em Plantas Obtidas por Cultura de Embrião**. 2006. 104 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

LOPEZ, A. M. Q. Taxonomia patogênese e controle de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo fundo, v. 9. p. 291-338, 2001.

MARTINS, I.; MELLO, S. C. M.; ÁVILA, Z. R.; PÁDUA, R. R.; PEIXOTO, J. R. **Produção de *Colletotrichum gloeosporioides* em meios líquidos**. EMBRAPA, 2005. (Circular Técnica, n. 45).

MARTINS, P. M.; MELO, E. C.; BARBOSA, L. C. A.; SANTOS, H. S.; MACHADO, M. C. influência da temperatura e velocidade do ar de secagem no teor e composição química do óleo essencial de capim-limão. **Acta Horticulture**, Amsterdam, v. 569, p. 155-160, 2002.

MATSURA, R.; UKEDA, H.; SAWAMURA, M. Tyrosinase inhibitory activity of citrus essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 54, n. 6, p. 2309-2313, Mar. 2006.

MENEZES, M. Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 23-24, 2002. Suplemento.

MING, L. C.; FIGUEIREDO, R. O.; MACHADO, S. R.; ANDRADE, R. M. C. Yield of essential oil of and citral content in different parts of lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf.) Poaceae. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 426, p. 555-559, 1996.

NAKAMURA, Y.; MIYAMOTO, M.; MURAKAMI, A.; OHIGASHI, H.; OSAWA, T.; UCHIDA, K. Aphase II detoxification enzyme inducer from lemongrass: identification of citral and involvement of electrophilic reaction in the enzyme induction. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, San Diego, v. 302, n. 3, p. 593-600, Mar. 2003.

NAVICKIENE, H. M. D.; MORANDIM, A. A.; MARQUES, M. O. M.; YOUNG, M. C. M.; KATO, M. J. Composition and antifungal activity of essential oils from *Piper aduncum*, *Piper arboreum* e *Piper tuberculatum*. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 3, p. 467-470, maio/jun. 2006.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger principios de bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

NGUEFACK, J.; LETH, V.; ZOLLO, P. H. A.; MATHUR, S. B. Evaluation of essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 94, n. 3, p. 329-334, Aug. 2004.

OROZCO, M. E. F. **Caracterização Morfológica, Molecular, Bioquímica e Patogênica de Isolados de *Colletotrichum* spp. Associados ao Cafeeiro em Minas Gerais e Comparação com *Colletotrichum Kahawae***. 2003. 147 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG.

OXENHAM, S. K.; SVOBODA, K. P.; WALTERS, D. R. Antifungal activity of the essential oil of basil (*Ocimum basilicum*). **Journal Phytopathology**, Berlin, v. 153, n. 3, p. 174-180, Mar. 2005.

OYEDELE, A. O.; GBOLADE, A. A.; SOSAN, M. B.; ADEWOYIN, F. B.; SOYELU, O. L. Formulation of na effective mosquito-repellent topical product from lemongrass oil. **Phytomedicine**, Jena, v. 9, n. 3, p. 259-262, Apr. 2002.

PARANAGAMA, P. A.; ABEYSEKERA, K. H. T.; ABEYWICKRAMA, K.; NUGALIYADDE, L. Fungicidal and anti-aflatoxigenic effects of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. (lemongrass) against *Aspergillus flavus* Link. Isolated from stored rice. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 37, n. 1, p. 86-90, 2003.

PEREIRA, A. A. **Efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de bactérias e fungos**. 2006. 58 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PERES, N. A. R.; KURAMAE, E. E.; DIAS, M. S. C.; SOUZA, N. L. de. Identification and characterization of *Colletotrichum* spp. Affecting fruit after harvest in Brazil. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 150, n. 3, p. 128-134, Mar. 2002.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. Piracicaba: Editora do Autor, 2000. 477 p.

PIPER, P.; CALDERON, C. O.; HATZIXANTHIS, K.; MOLLAPOUR, M.; Weak acid adaptation: the stress response that confers resistance to organic acid food preservatives. **Microbiology**, Reading, v. 147, n. 10, p. 2635-2642, Oct. 2001.

PRYOR, W. A. **Introduction to free radical chemistry**. Ed. Prentice-Hall, 1966. 110 p.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 755-760, jul./ago. 2006.

RAUBER, C. S.; PALMA, E. C.; HENRIQUES, A.; SCHAPOVAL, E. S. Avaliação da estabilidade do óleo volátil de *Cymbopogon citratus*: atividade antifúngica e análise cromatográfica. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v. 82, n. 1, p. 69-72, 2001.

SALGADO, A. P. S. P.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; SOUZA, J. A.; ABREU, C. M. P.; PINTO, J. E. B. P.; Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinérea* e *Bipolaris sorokiniana*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 2, p. 249-254, mar./abr. 2003.

SANNAZZARO, A. M.; FENILLE, R. C.; SOUZA, N. L. Saprofitismo e patogenicidade de *Rhizoctonia solani* Kuhn AG-4 em solo incorporado com farelo de mamona. **Acta Scientiarum**, Maringá, V. 23, n. 5. p. 1211-1214, out. 2001.

SANTOS, R. I. Metabolismo Básico e Origem dos Metabólitos Secundários. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre, RS: Ed. da UFSC, 2004. 1102 p.

SILVA, V. F.; CARDOSO, M. G.; GUIMARÃES, L. G. L.; MUNIZ, F. R.; SALGADO, A. P. S. P.; MORETTO, P.; MALUF, W. R.; SILVA, V. A.; ANDRADE, M. L. Rendimento do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf.) submetidos a diferentes métodos de cortes e secagens. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 17, n. 3, p. 107-153, set./dez. 2005.

SILVA JUNIOR, A. A.; VERONA, M. L. F. **Plantas medicinais e aromáticas**. Itajaí, SC: Ministério de Meio Ambiente, Fundo Nacional do Meio Ambiente, 1997. 456 p.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 6. ed. Rio de Janeiro: Editora Livros Técnicos e Científicos, 2000. 460 p.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre, RS: Ed. da UFSC, 2004. 1102 p.

SOLOMONS, T. W. G. **Química orgânica 1**. 7. ed. Rio de Janeiro: Editora Livros técnicos e científicos, 2001. 644 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2004. 719 p.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Herbarium Compêndio de Fitoterapia**. 3. ed. Curitiba, 1997. 317 p.

UPNMOOR, I. **Cultivo de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Guaíba: Agropecuária, 2003. 56 p.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: Uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 3, p. 390-400, maio/jun. 2003.

VELLUTI, A.; MARÍM, S.; GONZALEZ, P.; RAMOS, A. J.; SANCHIS, V. Initial screening for inhibitory activity of essential oils on growth of *Fusarium verticillioides*, *f. proliferatum* and *F. graminearum* on maize-based agar media. **Food Microbiology**, London, v. 21, n. 6, p. 649-656, Dec. 2004.

VENTURA, J. A. Taxonomia de *Fusarium* e seus segregados I – História, meios e procedimentos de cultivo. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 7, p. 271-298, 1999.

VIRMANI, O. P.; SRIVASTAVA, R.; DATTA, S. G. Oil of lemongrass Part 2: West Indian. **World Crops**, Surrey, v. 31, n. 3, p. 120-121, 1979.

WANKE, M.; SKORUPINSKA-TUDEK, K.; SWIEZEWSKA, E. Isoprenoid biosynthesis via 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate/2-C-methyl-D-erythritol-4-phosphate (DOXP/MEP) pathway. **Acta Biochimica Polonica**, Warsaw, v. 48, n. 3, p. 66-672, 2001.

ANEXOS

ANEXO A

| | | Página |
|-----------|---|---------------|
| TABELA 1A | Análise de variância com aplicação do teste F (1%) para os valores observados do teor de citral e de mirceno em relação à luz no óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> | 68 |
| TABELA 2A | Médias dos teores de citral e mirceno no óleo essencial <i>Cymbopogon citratus</i> , avaliados com relação ao tempo, e à presença/ausência de luz..... | 68 |
| TABELA 3A | Análise de variância com aplicação do teste F (1%) para os valores do teor de citral e de mirceno em relação à temperatura no óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> | 69 |
| TABELA 4A | Médias dos teores de citral e mirceno no óleo essencial <i>Cymbopogon citratus</i> , avaliados com relação ao tempo, e à presença/ausência de luz..... | 69 |

ANEXO B

| | | Página |
|-----------|---|---------------|
| FIGURA 1B | Curva analítica do padrão mirceno em função da concentração (mg/mL) pela área..... | 70 |
| FIGURA 2B | Curva analítica do padrão de citral (geranial e neral) em função da concentração (mg/mL) e da soma das áreas individuais..... | 70 |
| FIGURA 3B | Espectro no infravermelho do óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> submetido à temperatura ambiente..... | 71 |
| FIGURA 4B | Espectro no infravermelho do óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> submetido à temperatura baixa..... | 71 |
| FIGURA 5B | Espectro no infravermelho do óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> submetido à temperatura alta..... | 72 |
| FIGURA 6B | Cromatograma do óleo essencial obtido das folhas frescas do capim-limão..... | 72 |

ANEXO A

TABELA 1A - Análise de variância com aplicação do teste F (1%) para os valores observados do teor de citral e de mirceno em relação à luz no óleo essencial de *Cymbopogon citratus*.

| FV | GL | QM _{citral} | QM _{Mirceno} |
|--------------------|----|----------------------|-----------------------|
| Luz | 1 | 221,31** | 60,96** |
| Dias | 8 | 548,27** | 85,58** |
| Luz*Dias | 8 | 16,78** | 1,77** |
| Erro | 36 | 3,19 | 0,35 |
| C. de variação (%) | | 2,99 | 4,88 |
| Média geral | | 59,84 | 12,27 |

** Significativo a 1% pelo teste F

TABELA 2A - Médias dos teores de citral e mirceno no óleo essencial *Cymbopogon citratus*, avaliados com relação ao tempo e à presença/ausência de luz.

| Tratamentos | Compostos | |
|-------------|-----------|---------|
| | citral | mirceno |
| Ausência | 61,81 a | 13,33 a |
| Presença | 57,81 b | 11,21 b |

Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%

TABELA 3A - Análise de variância com aplicação do teste F (1%) para os valores do teor de citral e de mirceno em relação à temperatura no óleo essencial de *Cymbopogon citratus*.

| FV | GL | QM_{citrl} | QM_{mirceno} |
|--------------------|-----------|---------------------------|-----------------------------|
| Temperatura | 2 | 21,18** | 109,13** |
| Dias | 8 | 564,17** | 112,53** |
| Temperatura*Dias | 16 | 6,11 NS | 3,43** |
| Erro | 54 | 3,68 | 0,299 |
| C. de variação (%) | | 3,06 | 4,25 |
| Média geral | | 62,73 | 12,88 |

**Significativo a 1% pelo teste F

TABELA 4A - Médias dos teores de citral e mirceno no óleo essencial *Cymbopogon citratus*, avaliados com relação ao tempo, e à presença/ausência de luz.

| Temperatura | Médias | |
|--------------------|---------------|----------------|
| | citral | mirceno |
| Ambiente | 61,863 a | 13,33 a |
| Alta | 62,71 a b | 10,68 b |
| Baixa | 63,63 b | 14,62 c |

Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%

ANEXO B

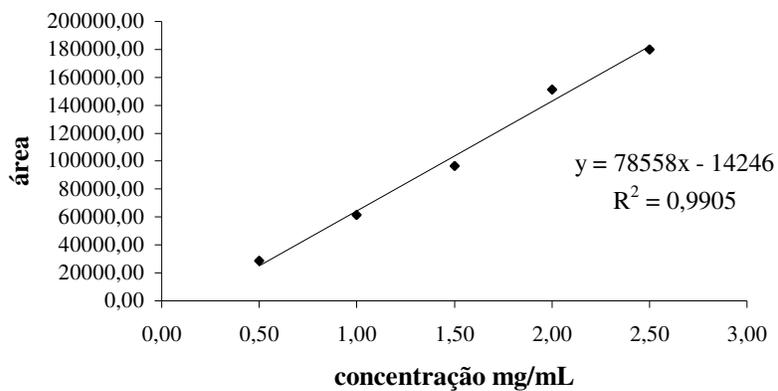


FIGURA 1B - Curva analítica do padrão mirceno em função da concentração (mg/mL) pela área

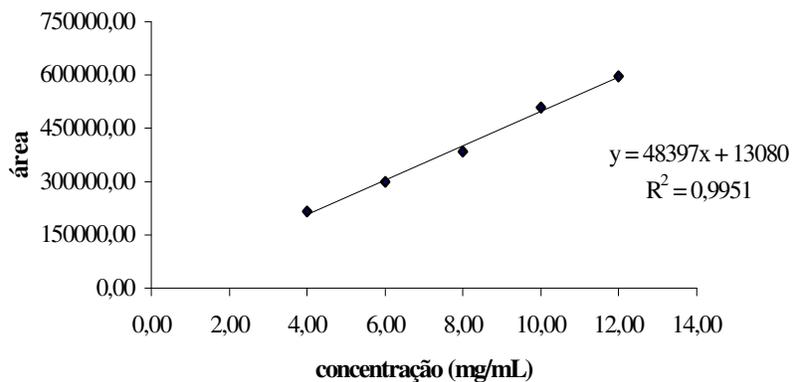


FIGURA 2B - Curva analítica do padrão de citral (geranial e neral) em função da concentração (mg/mL) e da soma das áreas individuais

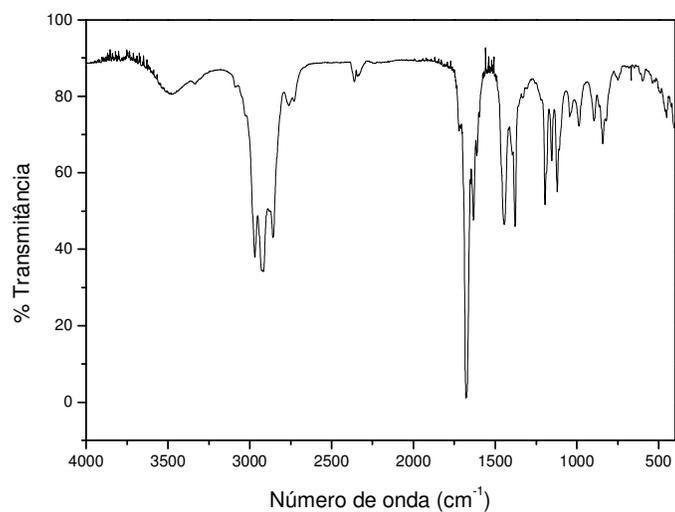


FIGURA 3B - Espectro no infravermelho do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* submetido à temperatura ambiente

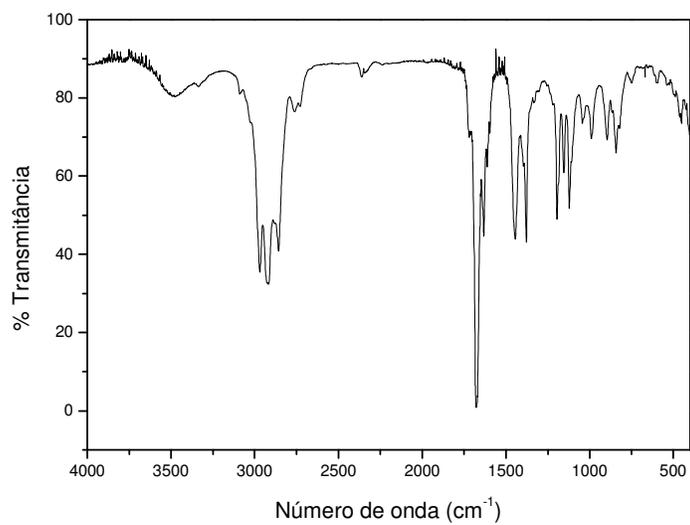


FIGURA 4B - Espectro no infravermelho do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* submetido à temperatura baixa

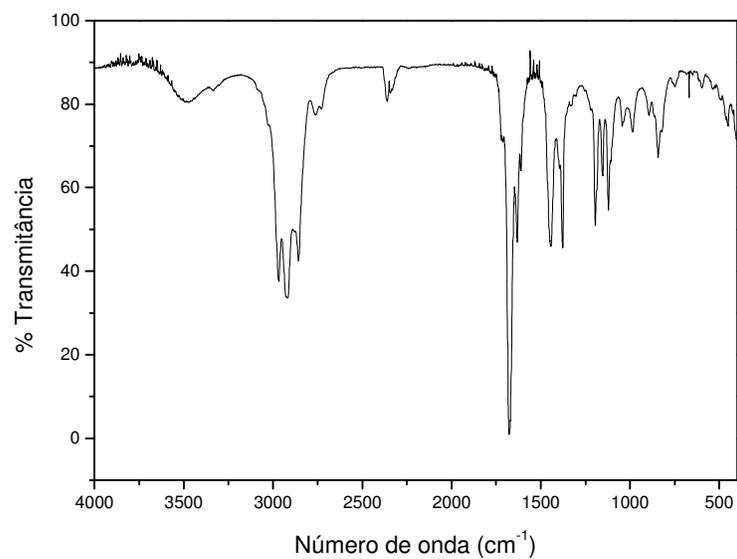


FIGURA 5B - Espectro no infravermelho do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* submetido à temperatura alta

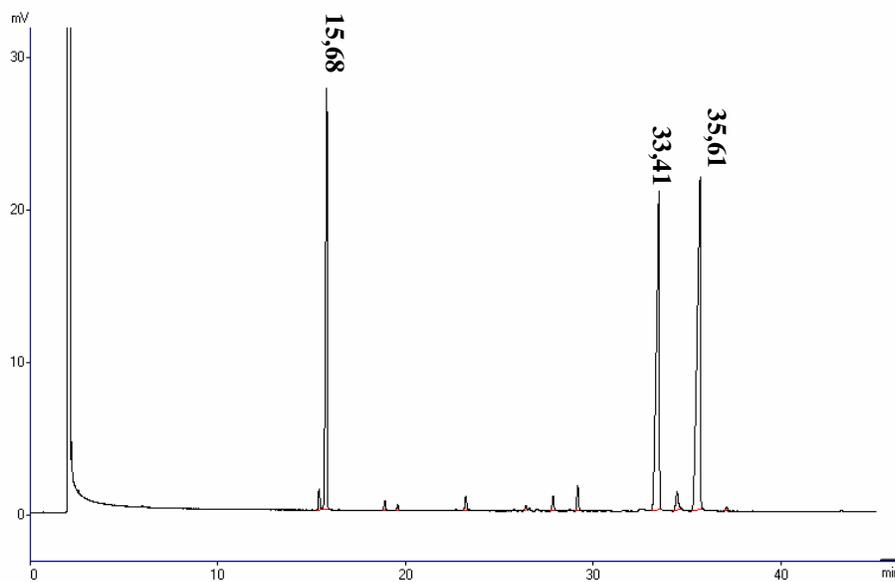


FIGURA 6B - Cromatograma do óleo essencial obtido das folhas frescas do apim-limão.