

ANÁLISE DO POTENCIAL FUNGITÓXICO DE ORÉGANO, *Origanum vulgare*, NO CRESCIMENTO DE FUNGOS FITOPATÓGENOS

João Paulo Silva NUNES (1); Lucas Pinheiro DIAS (2)

(1) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí - IFPI, Praça da Liberdade nº 1597, Centro – Teresina - PI, 3215-5224, 3215-5206, e-mail: jp.gen.ws@live.com

(2) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, e-mail: lpinheirodias@hotmail.com

RESUMO

O potencial toxicológico de compostos químicos das plantas é considerado como uma das questões científicas que mais precisam ser elucidadas considerando o uso de sua bioatividade em detrimento dos tratamentos clássicos. Óleos essenciais têm se tornados grandes atrativos de pesquisas tanto para as indústrias quanto para o meio acadêmico devido ao crescente interesse em um “consumo verde” e para garantir a qualidade e a segurança de alimentos perecíveis. A presente pesquisa experimental direciona-se na análise da inibição do crescimento micelial de dois importantes fungos fitopatógenos, *Cladosporium cladosporioides* e *Colletotrichum lindemuthianum*, utilizando, como possível agente antifúngico, o extrato aquoso de orégano, que tem em sua composição química carvacrol e thymol, potentes agentes microbianos. A avaliação da eficácia do extrato deu-se em três diferentes concentrações por meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (0,3; 0,5 e 1,0 mg.mL⁻¹), cuja porcentagem inibitória foi comparada com o meio sem extrato. A inibição foi comprovada, sendo a maior inibição observada em *C. lindemuthianum* que teve o crescimento reduzido em 35,28%. O resultado demonstra significativa atividade inibitória do orégano no crescimento de fungos, podendo ser um componente a mais na composição de fungicidas naturais.

Palavras-chave: inibição, fungicida, extrato vegetal, fungitoxidade.

1 INTRODUÇÃO

Diante largo crescimento agrícola em todos os continentes do mundo, os grandes e pequenos produtores viram-se na necessidade de proteger suas plantações contra patógenos, responsáveis em grande parte pela dizimação da produção. No entanto, não se deram conta de que o uso indiscriminado de substâncias tóxicas sintéticas selecionou os indivíduos mais resistentes, inviabilizando, então, a reutilização desses agrotóxicos em novas colheitas, dificultando o controle das doenças ocasionadas (MOURA et. al., 2008).

Além de gerar efeitos negativos na composição ambiental, na saúde humana e animal (STADNIK; TALAMINI, 2004; ANVISA, 2005), a problematização dá-se, também, devido à diminuição da produção e do fornecimento dos alimentos, tendo como fungos os maiores responsáveis, aproximadamente 70% dos casos (POZZA, et. al., 2006).

Em contrapartida a utilização de substâncias sintéticas no combate aos fungos, o uso das substâncias extraídas de vegetais representa uma importante opção no controle de doenças no meio agrícola (COUTINHO et. al., 1999). Por tal característica, muitos pesquisadores buscam em componentes químicos de produtos naturais capacidades fungitóxicas, bem como sua aplicação no controle de fungos fitopatógenos (SILVA e BASTOS, 2007).

Diante do observado, a presente pesquisa experimental direciona-se na análise da inibição do crescimento micelial de dois importantes fungos fitopatógenos, *Cladosporium cladosporioides* e *Colletotrichum lindemuthianum*, utilizando, como possível agente antifúngico, o extrato aquoso de orégano, *Origanum vulgare*.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O potencial toxicológico de compostos químicos das plantas é considerado como uma das questões científicas que mais precisam ser elucidadas considerando o uso de sua bioatividade em detrimento dos tratamentos clássicos. De acordo com Schwan-Estrada e Stangarlin (2005), a riqueza química das plantas medicinais, que agregam princípios ativos fungitóxicos, tornaram-nas potenciais fontes de moléculas capazes de serem empregadas na defesa de plantas contra fitopatógenos, tanto pela atividade fungitóxica quando pela indução de resistência.

Óleos essenciais têm se tornados grandes atrativos de pesquisas tanto para as indústrias quanto para o meio acadêmico devido ao crescente interesse em um “consumo verde” e para garantir a qualidade e a segurança de alimentos perecíveis (BURT, 2004; HOLLEY, 2005). Plantas aromáticas e medicinais apresentam grande potencial antimicrobiano e seu uso como fármaco tem sido reconhecido há tempos (KIM et al., 1995).

Uni ou multicelulares e eucariontes, os fungos são indivíduos heterótrofos por absorção providos de parede celular quitinosa. São de fundamental importância ambiental, pois, as espécies saprófagas juntamente com as bactérias heterotróficas, encarregam-se na decomposição da biosfera. Grande parte das espécies do reino Fungi, associa-se a outros organismos, a exemplo dos líquens (fungos e algas) e micorrizas (fungos e vegetais superiores). Os fungos possuem, também, valor econômico e aplicações na produção e produção de medicamentos e alimentos (STEVENSON, 1974).

Andrade (2006) e complementado por Pinto (2009) cita que a atividade antifúngica observada em extratos vegetais é, muitas vezes, atribuída a compostos orgânicos que poucos participam diretamente no desenvolvimento vegetal. São referidos como metabólitos secundários ou produtos naturais que desempenham fundamental papel na interação de defesa da planta contra predadores e patógenos e vêm sendo utilizados largamente na indústria farmacêutica e agroquímica.

Os princípios ativos são sintetizados pelas plantas e armazenados durante seu crescimento. Declara que todas as espécies vegetais possuem, simultaneamente, substâncias inertes e princípios ativos, cuja concentração dá-se, preferencialmente, nas flores, raízes ou folhas, e, em menor proporção, nos frutos e nas cascas. A concentração destes princípios também não é uniforme durante seu ciclo de vida,

sendo influenciadas pelas questões ambientais e de manuseio (habitat, colheita e preparação) (TESKE & TRENTINI, 1997, citado por REIS, 2006).

Várias espécies do gênero *Origanum* têm entre seus principais constituintes carvacrol e timol que são acompanhados por outras substâncias como limoneno, β -cariofileno, p-cimeno, canfeno, linalol, α -pineno, que são encontrados em menor concentração, mas que também apresentam atividade microbiana (CLEFF *et al.*, 2009).

A eficácia do óleo de orégano e do composto químico carvacrol foi comprovada por Preuss (2001), quando realizou testes em 18 camundongos infectados pela bactéria *staphylococcus*. No teste, seis camundongos receberam o óleo por 30 dias, mantendo 50% vivos, após o tratamento, em comparação, nenhum camundongo sobreviveu por mais de 21 dias com tratamento de óleo de oliva com carvacrol. Justificando de certa forma a necessidade da averiguação do potencial não apenas antibacteriano, mas também antifúngico assim, possivelmente, apresentar-se como um provável herbicida natural.

3 METODOLOGIA

3.1 Aquisição do material vegetal e infusão do extrato

Foram adquiridos 120g de folhas do *Origanum vulgare* já secas de forma comercial em uma rede de supermercados na região central da cidade de Teresina-PI. A preparação do extrato aquoso realizou-se no Laboratório de Biologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – IFPI. As folhas foram maceradas com o auxílio de um almofariz e pistilo por aproximadamente 15 minutos até a obtenção de um pó fino que foi totalmente imerso em 300 mL água destilada e agitadas com o auxílio de um agitador magnético por 20 minutos. Após a agitação, toda a mistura foi centrifugada por 01 minuto a 2.000 rpm e filtrada para a completa remoção de qualquer resíduo sólido do meio. Em seguida, foi armazenada em um recipiente de vidro escuro e guardada ao abrigo da luz.

3.2 Teste fungitóxico

Com base metodológica em Franzerner *et. al.* (2007), o teste de fungitoxidade foi avaliado por meio da inibição *in vitro* do crescimento micelial dos fungos fitopatógenos *C. cladosporioides* e *C. lindemuthianum*, cujas linhagens provêm do Laboratório de Fungos Zoospóricos da Universidade Federal do Piauí (UFPI). O presente teste realizou-se no Laboratório de Biologia do Instituto Federal do Piauí (IFPI).

Em ambiente estéril, três diferentes volumes do extrato de orégano (879,76 μ L, 1466,27 μ L e 2932,55 μ L) foram inseridos ao meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar) ainda fundente (100 mL), de modo a serem obtidas três diferentes concentrações de extrato por meio de cultura (0,3; 0,5; e 1,0 mg.mL⁻¹). Após a solidificação do meio durante 15 minutos em luz UV de 350nm, um disco micelial com aproximadamente 06 mm de diâmetro foi transferido de uma cultura pura de sete dias para o centro do novo meio. Os testes foram feitos em triplicata para cada concentração e foram comparadas após seis dias com o meio controle (BDA puro, sem extrato), cuja análise deu-se com duas medições do diâmetro opostas das colônias quando o controle atingiu o crescimento máximo.

4 ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS DADOS

Após um período de incubação de 06 dias a 30 °C, o crescimento micelial de *C. cladosporioides* e de *C. lindemuthianum* atingiu um resultado médio de 6,2cm e 4,28cm respectivamente, no meio não tratado, servindo, então, como base para os cálculos das taxas inibitórias provenientes do extrato aquoso de orégano.

O extrato apresentou relevantes taxas de inibição nos fungos do teste. A maior atuação antifúngica deu-se em *Colletotrichum lindemuthianum*, apresentando uma inibição máxima de 35,28% contra 15,96% observado no *Cladosporium cladosporioides*.

Os dados podem ser analisados e comparados na tabela 01, cujos valores do crescimento micelial e da taxa de inibição de ambos os fungos são expressos.

Tabela 01: Atividade fungitóxica do óleo aquoso de *Origanum vulgare*

Concentração (mg.mL ⁻¹)	<i>Cladosporium cladosporioides</i>		<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	
	Crescimento micelial (cm)	Inibição	Crescimento micelial (cm)	Inibição
0,00	6,20	-	4,28	-
0,30	5,90	4,83%	3,58	16,35%
0,50	5,46	11,93%	3,45	19,39%
1,00	5,21	15,96%	2,77	35,28%

Cleff et. al (2010) considerou que o óleo extraído de *O. vulgare* pode representar uma ótima alternativa para o tratamento de candidíase devido à sua alta ação antifúngica contra *Candida* spp *in vitro*. Realizou testes, também, observando a atividade fungitóxica do óleo de orégano no tratamento de uma micose subcutânea causada pelo fungo *Sporothrix schenckii*, esporotricose; concluindo que o extrato obtido do orégano demonstra atividade sobre o fungo, utilizando a técnica de microdiluição em caldo adaptada a um fitofármaco.

Busatta (2007) verificou a atividade antimicrobiana em testes com diversos tipos de bactérias e também em linguiça fresca, concluindo que bastam poucas concentrações do óleo essencial de orégano a fim de serem obtidos bons resultados inibitórios.

Souza (2006) considera o uso de óleo de orégano como um conservante de alimentos, já que a eficácia antimicrobiana foi comprovada em suas pesquisas, sugerindo que futuras pesquisas podem elucidar a eficácia no crescimento/sobrevivência de outros microorganismos atuantes em alimentos.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os testes aqui apresentados demonstram uma relevante capacidade inibitória fúngica do extrato aquoso de orégano, cuja maior inibição é notória no desenvolvimento do fungo fitopatógeno *Colletotrichum lindemuthianum*, *in vitro*. A utilização do orégano em colheitas que sofrem da atuação dos dois fungos deste trabalho pode ser um componente de auxílio adicional em fungicidas naturais promovendo a preservação e consequentemente o aumento da produção agrícola, para isso, restam apenas novos estudos na atuação do extrato na inibição *in vivo*.

6 REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Brasil. **Controlando agrotóxicos nos alimentos: o trabalho desenvolvido pela ANVISA, com as vigilâncias sanitárias dos Estados do AC, ES, GO, MG, MS, PA, PE, PR, RJ, RS, SC, SP, TO, a FIOCRUZ/INCQS e os laboratórios IAL/SP, IOM/FUNED, LACEN/PR e ITEPE/PE.** Relatório de atividades 2001-2004. Brasília: ANVISA, 2005.

ANDRADE, S. P. de. **Avaliação da atividade antifúngica de extratos de *Cassia fistula* (Leguminosae).** Revista PIBIC, Osasco, v.3, n.2, p.151-158. 2006.

BURT, S. **Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review.** *Int. J. Food Microbiol.*, v.94, p.223-253, 2004.

BUSATTA, C., et al . **Evaluation of *Origanum vulgare* essential oil as antimicrobial agent in sausage.** Braz. J. Microbiol., São Paulo, v. 38, n. 4, Dec. 2007

CLEFF, M. B., et al . **Atividade in vitro do óleo essencial de *Origanum vulgare* frente à *Sporothrix Schenckii*.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., Belo Horizonte, v. 60, n. 2, Apr. 2008 .

CLEFF, M. B., et al . **In vitro activity of *Origanum vulgare* essential oil against *Candida* species.** Braz. J. Microbiol., São Paulo, v. 41, n. 1, Mar. 2010.

COUTINHO, W. M.; ARAÚJO, E.; MAGALHÃES, F. H. L. **Efeitos de extratos de plantas anacardiáceas e dos fungicidas químicos Benomyl e Captan sobre a microflora e qualidade fisiológica de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.).** Ciência e Agrotécnica, v.23, p.560-568. 1999.

FRANZENER, G., et al. **Atividades antibacteriana, antifúngica e indutora de fitoalexinas de hidrolatos de plantas medicinais.** Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 28, n. 1, p. 29-38, jan./mar. 2007.

HOLLEY, R.A.; PATEL, D. **Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials.** *Food Microbiol.*, v.22, p.273-292, 2005.

KIM, J.; MARSHALL, M.R.; WEI, C. **Antibacterial Activity of Some Essential Oil Components against Five Foodborne Pathogens.** *J. Agric. Food Chem.*, v.43, p.2839-2845, 1995.

MOURA, H. F. N., et al. **Avaliação da atividade fungitóxica do extrato aquoso de alho (*Allium sativum*) sobre *Cladosporium sphaerospermum*.** III Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica – CONNEPI. Fortaleza – CE, 2008.

PINTO, C. E. M., et al. **POTENCIAL FUNGITÓXICO DE *Syzygium aromaticum* SOBRE OS ESPOROS DE *Colletotrichum lindemuthianum*.** IV Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica – CONNEPI. Belém – PA, 2009

PREUSS, G. **Antifungal activities of origanum oil against *Candida albicans*.** *Mol Cell Biochem* v.228, p.111–117, 2005.

POZZA, E. A., et al. **Extratos de candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) Macleish) na inibição in vitro de *Cylindrocladium scoparium* e de quatro espécies de ferrugens.** Cerne, v.12, n. 2, p.189-193. 2006.

REIS, M. O. R. dos. **Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro do extrato hidroalcolico de folhas da *Persea gratissima* Gaerth – Abacateiro (Lauraceae).** 2006, 76p. Dissertação (Mestrado em promoção da saúde) – Universidade de Franca - Franca. 2006.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R. **Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência.** In: CAVALCANTI, L. S. et al. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos.** Piracicaba: Fealq, p.125-32, 2005.

SILVA, D. M. M. H.; BASTOS, C. N. **Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de *Piper* sobre *Crinipellis pernicios*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*.** Fitopatol. Bras., v.32, n.2. 2007.

Souza, I.A.M.; Borges, R.G.; Souza, L.B.; Santana, W.J.; Coutinho, H.D.M. **General traits of action, treatment and fungal resistance to fluconazol.** *Scientia Medica*. 15, 189-197, 2005.

STADNIK, M.J.; TALAMINI, V. **Manejo ecológico de doenças de plantas.** Florianópolis: UFSC, 293p., 2004.

STANGARLIN, J. R., et al. **Plantas medicinais e o controle alternativo de fitopatógenos.** Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento, v.11, p.16-21. 1999.

STEVENSON, G. B. **Biologia dos fungos, bactérias e vírus.** São Paulo: Polígono/Edusp, 267p. 1974.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Compêndio de fitoterapia.** 3. ed. Curitiba: Herbarium, 1997.