



## ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Cymbopogon winterianus* E *Cymbopogon flexuosus* E USO DA NANOTECNOLOGIA NO CONTROLE DE DOENÇAS DA *Avena sativa*<sup>1</sup>

Talita Elis Bastian<sup>2</sup>, Simony Costa beber<sup>3</sup>, Gabriela Fischer Boranga<sup>4</sup>, Alana Andres<sup>5</sup>, José Antonio Gonzalez da Silva<sup>6</sup>, Chistiane De Fátima Colet<sup>7</sup>,

<sup>1</sup> projeto de pesquisa desenvolvido na Unijuí;

<sup>2</sup> Estudante do curso de Ensino Médio da Escola Técnica 25 de julho. Bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica no Ensino Médio, financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - PIBIC EM/CNPq.

<sup>3</sup> Farmacêutica, formada pela UNIJUÍ. Mestre em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade da UNIJUÍ.

<sup>4</sup> Estudante do Ensino Médio na Escola Técnica 25 de julho. Bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica no Ensino Médio, financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - PIBIC EM/CNPq.

<sup>5</sup> Estudante do curso de farmácia da UNIJUÍ. Bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica e Tecnológica financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul - PROBIC/PROBITI - FAPERGS.

<sup>6</sup> Professor do curso de Agronomia, PPGSAS, PPGMMC, UNIJUÍ.

<sup>7</sup> Professora Orientadora, Doutora em Ciências Farmacêuticas, Professora permanente do Programa de Pós-Graduação em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade da Unijuí e do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde da UNIJUÍ.

### INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais de Cipreste (*Cupressus sempervirens*) e Lavanda (*Lavandula officinalis*) são dois óleos naturais amplamente utilizados na aromaterapia e indústria cosmética. Ambos possuem propriedades terapêuticas e aromáticas únicas, oferecendo uma série de benefícios para o bem estar e a saúde das pessoas e animais (PEDROSA; PORFIRIO,2020; BEBER et al.,2021).

É importante ressaltar que que os óleos essenciais de cipreste e de lavanda podem ser importantes antifúngicos naturais, quando se trata de fungos de armazenamento de sementes, como o *Aspergillus flavus*, devido à composição química complexa e sinergia destes compostos, sendo interessante realizar-se pesquisas nesta área (PEDROSA;PORFIRIO,2020; BEBER et al.,2021). Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antifúngica dos óleos essenciais de cipreste e lavanda sob o fungo *A. flavus*.

### METODOLOGIA

O fungo fitopatogênico *Aspergillus flavus* foi cultivado e analisado no Laboratório de Microbiologia da UNIJUÍ, a partir de cepa liofilizada padrão de cultura pura da *American Type Culture Collection* de *Aspergillus flavus* ATCC-9643 adquiridas da marca *Microbiologics*, lote 1182-07-8.



Para o cultivo do fungo na fase de testes foram preparadas placas de Petri descartáveis estéreis, de 90 x 15 mm com meio de cultura batata-dextrose ágar (BDA), adquirido sob a forma desidratada (Kasvi®), o qual foi preparado e autoclavado a 121°C por 15 minutos. Após atingir a temperatura de 50°C, foram vertidos 20 mL de meio de cultura por placa de Petri. Posteriormente à solidificação do BDA, as cepas padrão ATCC de *Aspergillus flavus* foram semeadas em movimento de estrias (zig-zag) com auxílio de um swab estéril, em bancada, próximo à chama. Em seguida as placas foram vedadas com filme plástico (Policloreto de Vinila – PVC), identificadas e incubadas invertidas em estufa bacteriológica à temperatura de 27°C ±2°C, no escuro, por um período de 7 dias, sendo este o período ideal para obter estruturas jovens e em fase de crescimento consistindo de micélios e conídios de cada fungo, conforme metodologia de Pallu (2010) e do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2002).

Para avaliação *in vitro* da atividade antifúngica dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial dos fungos fitopatogênicos foram distribuídos individualmente 50µL das diluições do óleo essencial na superfície do meio de cultura BDA nas placas de Petri estéreis, com auxílio de uma alça estéril descartável tipo Drigalsky. Após a distribuição, no centro de cada placa foram repicados individualmente os materiais fúngicos ATCC de *A. flavus*, com 7 dias de crescimento. Para os repiques, foi coletada uma pequena porção de micélio, a partir da borda da colônia, considerada a região mais jovem e de rápido crescimento fúngico, com o auxílio de palitos de madeira esterilizados em autoclave, conforme técnicas adaptadas de Sarmento-Brum et al. (2013), e do teste de estabilidade mitótica utilizada por Tamietti (2018).

Para o controle negativo repetiu-se o processo anterior, contudo com o uso de água destilada estéril acrescida de Tween® 80 a 2%. Para o controle do crescimento dos micélios fúngicos foi utilizado apenas o meio de cultura BDA em placas estéreis, nas quais os fungos foram replicados.

As placas foram vedadas com filme plástico PVC, identificadas e incubadas invertidas em estufa bacteriológica à temperatura de 27°C ±2°C, com fotoperíodo de 12h.

A avaliação do crescimento micelial das colônias fúngicas foi realizada com auxílio de régua milimetrada, realizando-se medições em duas direções perpendiculares do diâmetro do crescimento destas colônias. As leituras foram realizadas a cada 24 horas, por três dias



consecutivos (VENTUROSO et al., 2011). Determinou-se com base no crescimento dos fungos pelo período de 72 horas de incubação das placas, o comportamento das diferentes concentrações dos óleos essenciais frente ao crescimento fúngico, comparando-o ao controle negativo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

É possível perceber na Tabela 1, a redução na velocidade do crescimento do fungo utilizado, com os diferentes óleos essenciais aplicados, em comparação com o controle negativo. Na maior concentração testada (70%) constataram-se diferentes índices de velocidade de crescimento micelial (IVCM), para *A. flavus*, com IVCM de 0,08 mm/h para ambos os óleos essenciais, o que se manteve nas 48 horas de análise. Esses resultados confirmam o efeito inibitório dos óleos essenciais.

**Tabela 1:** Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) dos óleos essenciais de *Lavandula officinalis* e *Cupressus sempervirens* frente ao fungo *Aspergillus flavus*.

| Concentração | <i>L. officinalis</i> | <i>C. sempervirens</i> | Controle positivo | Controle negativo |
|--------------|-----------------------|------------------------|-------------------|-------------------|
| <b>24 h</b>  |                       |                        |                   |                   |
| 10%          | 0,12 mm/h             | 0,16 mm/h              | 0,08 mm/h         | 0,16 mm/h         |
| 70%          | 0,08 mm/h             | 0,08 mm/h              | -                 | -                 |
| <b>48 h</b>  |                       |                        |                   |                   |
| 10%          | 0,12 mm/h             | 0,12 mm/h              | 0,08 mm/h         | 0,25 mm/h         |
| 70%          | 0,08 mm/h             | 0,16 mm/h              | -                 | -                 |

Legenda: mm: milímetros; h: horas. Fonte: O autor (2023)

Verificou-se que o tratamento com concentração de 10% nas primeiras 24 horas não surtiu efeito de controle no crescimento fúngico. Após 48 horas, o tamanho dos micélios



eram inferiores ao do controle negativo, porém acima do valor do controle positivo. Os tratamentos com concentrações de 70% dos óleos essenciais dentro de 24 horas ambos atingiram um efeito desejado para o controle dos fungos *Aspergillus flavus*, no entanto o óleo essencial de *C. sempervirens* não foi eficiente no controle com 48 horas, permitindo que o tamanho do micélio dos fungos ficassem acima do valor do controle positivo.

CARVALHO et al. (2023) trabalhando com óleo essencial de *Lippia alba in vivo*, obteve resultados positivos no controle de inibição de *Aspergillus welwitschiae*. Assim como, outros estudiosos trabalhando com óleos essenciais copaíba (*Copaifera langsdorfii*) e manjerição (*Ocimum basilicum*), e anis estrelados, conseguiram controlar a incidência dos fungos *A. flavus*, nas culturas de feijão-fava e lotus, respectivamente, o que corrobora com os resultados encontrados neste experimento, demonstrando que os óleos essenciais possuem capacidade para controlar o crescimento fúngico, diminuindo a necessidade da utilização de agroquímicos e colaborando para segurança alimentar (GOMES et al., 2016; LI et al., 2020).

Os inóculos de *Aspergillus flavus* foram preparados em solução salina estéril a partir de colônias jovens do fungo filamentososo com 7 dias de crescimento, entretanto, a turbidez segundo a escala 0,5 de McFarland com padronização através da leitura em espectrofotômetro não foi realizada, por falta de recursos disponíveis no momento dos testes, o que pode ter contribuído para o rápido crescimento do fungo testado.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se com este estudo, que o óleo essencial de lavanda pode ser comparado ao controle positivo quanto à sua eficácia frente ao fungo *Aspergillus flavus*, podendo ser um candidato para pesquisas futuras, para o desenvolvimento de um biofungicida de armazenamento de sementes.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pelo concedimento da bolsa Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - PIBIC EM.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica de Fungos Filamentosos; Norma Aprovada. **Documento M38-A**, v.22, n. 16, NCCLS [ISBN 1-56238-470-8]. Disponível em:[http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/clsi/clsi\\_OPAS1M38-A.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/clsi/clsi_OPAS1M38-A.pdf).

CARVALHO, Z. S. DE et al. Atividade antifúngica do óleo essencial de *Lippia alba* em *Aspergillus welwitschiae*. **MAGISTRA**, v. 33, n. (2023) Volume contínuo, 26 maio 2023.

OLIVEIRA, J. A. Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativa* L.) e pimentão (*Capsicum annuum* L.). 1991. 111p. **Dissertação (Mestrado em Fitossanidade)** – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Universidade Federal de Lavras. Lavras.

SARMENTO-BRUM, R.B.C. et al. Avaliação *in vitro* de diferentes métodos de análises de fungitoxicidade de óleos essenciais. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 29, n. 3, p. 623-626, 2013.

PALLU, A. P. S. Potencial biotecnológico de fungos do gênero *Penicillium* e interação com cana-de-açúcar. **Tese (Doutorado)** - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Piracicaba/SP, 2010, 129p.: il. Disponível em: [https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11137/tde-17092010-152316/publico/Ana\\_Paula\\_Pallu.pdf](https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11137/tde-17092010-152316/publico/Ana_Paula_Pallu.pdf). Acesso em: 16 nov. 2021.

PEDROSO, A.R.M.F.; PROFILIO, M.L.N.B. **Óleos essenciais nos tratamentos das disfunções estéticas**. Conexão UNIFAMETRO, 2020, XVI semana acadêmica, ISSN: 2357-8645. Disponível em: <[https://doity.com.br/media/doity/submissoes/artigo-38d43c00d5e770e93130a7f07eebfc11411b5de1-segundo\\_arquivo.pdf](https://doity.com.br/media/doity/submissoes/artigo-38d43c00d5e770e93130a7f07eebfc11411b5de1-segundo_arquivo.pdf)>.

SARMENTO-BRUM, R.B.C. et al. Avaliação *in vitro* de diferentes métodos de análises de fungitoxicidade de óleos essenciais. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 29, n. 3, p. 623-626, 2013.

TAMIETTI, M. S. Transformação de *Trichoderma harzianum* BRM27158 por *Agrobacterium tumefaciens* e caracterização de uma biblioteca de transformantes. **Dissertação (Mestrado em Biologia Molecular)**. Universidade de Brasília, Brasília, 2018. 88 f.

Venturoso, L. R., Bacchi, L. M. A., Gavassoni, W. L., Conus, L. A., Pontim, B. C. A., & Bergamin, A. C. (2011). Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. *Summa Phytopathologica*, 37, 18–23. <https://doi.org/10.1590/S0100-54052011000100003>