

EFEITO DO EXTRATO DE SEMENTES DE *Eugenia malaccensis* (L.) SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL DOS FUNGOS ASSOCIADOS A *Coffea canephora*, *Fusarium* sp E *Penicillium* sp.

Lunalva A. P. Sallet¹, E-mail: lunalvaps@yahoo.com.br; César A. D. Teixeira², E-mail: cesar@cpafro.embrapa.br; Daniella K. S. Lima³; Farah de C. Gama⁴; Valdir A. Facundo⁵; José N. M. Costa²

¹ MSc. Biologia Experimental, Bolsista CNPq/Embrapa Rondônia; ² Pesquisador, Embrapa Rondônia; ³ MSc. Biologia Experimental; ⁴ MSc. Biologia Experimental, Assistente, Embrapa Rondônia; ⁵ Prof. Pesquisador Universidade Federal de Rondônia.

Resumo:

Na cultura do café, as doenças provocadas por fungos representam o maior problema a uma produção estável em altos níveis de produtividade e qualidade. Os fungos *Fusarium* sp e *Penicillium* sp preocupam, pois causam doenças e contaminação por toxinas carcinogênicas. O uso indiscriminado de defensivos agrícolas vem causando prejuízos aos ecossistemas e ao homem, que busca produtos alternativos no controle de doenças de plantas. Com o objetivo de avaliar o efeito do extrato de *E. malaccensis* sobre o crescimento micelial dos fungos associados a *Coffea canephora* foram realizados testes biológicos com extrato etanólico sobre os fungos *Fusarium* sp e *Penicillium* sp para testar sua atividade fungicida. Foi avaliado o crescimento micelial das colônias dos fungos após 24, 48 e 96 horas da inoculação. Os resultados mostraram que após 96 horas houve uma redução significativa no crescimento micelial de *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp. sob a ação de *E. malaccensis* quando comparados com os respectivos tratamentos controle. Os testes biológicos indicam que *E. malaccensis* apresenta atividade fungicida sobre *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp. Novos experimentos serão conduzidos para avaliar a ação deste extrato na conidiogênese e viabilidade dos esporos destes fungos.

Palavras-chave: fungicidas botânicos, café e controle biológico.

Effect of the extract of seeds of *Eugenia malaccense* (L.), on growth micelial of the fungos associates *Coffea canephora*, *Fusarium* spp and *Penicillium* spp.

Abstract

In the culture of the coffee, the illnesses provoked for fungus represent the greater problem to a steady production in high levels of productivity and quality. The fungus *Fusarium* sp and *Penicillium* sp worry, therefore they cause illnesses and contamination for carcinogênicas toxins. The indiscriminate use of agricultural defensives comes causing damages to ecosystems and the man, who searches alternative products in the control of illnesses of plants. With the objective to evaluate the effect of the extract of *E. malaccensis* on the micelial growth of the fungus associates the *Coffea canephora* had been carried through biological tests with etanolic extract on the fungos *Fusarium* sp and *Penicillium* sp to test its activity fungicidal. It was evaluated the micelial growth of the colonies of fungus after 24, 48 and 96 hours of the inoculation. The results had shown that after 96 hours sp had a significant reduction in the micelial growth of *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp. under the action of *E. malaccensis* when compared with the respective treatments it has controlled. *E. malaccensis* the biological tests indicate that presents fungicidal activity on *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp. New experiments will be lead to evaluate the action of this extract in conidiogênese and viability of the esporos of these fungus.

Key words: fungicidal activity, coffee and biological control

Introdução

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café (Leoni et al.2001). Os frutos de café estão expostos à contaminação por vários microorganismos, principalmente fungos capazes de afetar fases de pré e pós-colheita, resultando em perda no rendimento, descoloração, redução do valor nutricional e contaminação por micotoxinas (Fujii, et al 2002). Entre os integrantes da população fúngica associados a diferentes estagios produtivos de café, os fungos encontrados com maior frequência são: *Alternaria* sp, *Aspergillus* sp,

Cladosporium sp, *Colletrichum* sp, *Fusarium* sp, *Penicillium* sp entre outros dependendo do local de cultivo. (Taniwaki et al, 2000).

Segundo Gama (2005), dentre os fungos associados a *C. canephora*, *Fusarium* sp e *Penicillium* sp foram encontrados em maior abundancia. Espécies de *Fusarium* e *Penicillium* são conhecidas por suas interações com os frutos de café. O primeiro esta relacionado com doenças dos frutos, sendo a fusariose a principal doença relacionada a este fungo. O segundo é conhecido como o contaminante do café tendo influencia na qualidade dos grãos para o comércio. Além disso, espécies de *Penicillium* estão ligadas a contaminação por toxinas no caso as Ocratoxinas.

A Ocratoxina A (OTA) é uma substância produzida por algumas espécies fúngicas do gênero *Aspergillus* e *Penicillium*, que causam efeitos nefrotóxicos, citotóxico e carcinogênico (Creppy, 1999). O tratamento quimico ainda é o mais utilizado no controle de fungos. Apesar de eficiente, estes nem sempre eliminam totalmente o fungo e podem causar prejuízos a microbiota do solo (Rodrigues et al, 2006).

Segundo Rodrigues, et al 2006, uma alternativa para controle de fitopatógenos é a utilização de subprodutos de plantas (extrato bruto, óleo essencial, tintura), uma vez que estudos revelaram em sua composição, substâncias com propriedades fungicidas e/ou fungitóxicas.

O gênero *Eugenia* é considerado um dos maiores da família Myrtaceae, com aproximadamente 500 espécies de arvores e arbustos, dos quais 400 distribuem-se no Brasil (De Oliveira et al, 2005) e assumem destaque especial, por fornecer extratos utilizados na medicina tradicional como agentes antimicrobianos, antiinflamatórios entre outros (Hussein et al. 2003).

A espécie *Eugenia malaccensis*, (sinonímia: *Syzygium malaccensis* Merr. & Perry), conhecida popularmente no Brasil como jambo vermelho, utilizado na medicina popular como antiinflamatório, diabetes e tosse entre outras. Estudos farmacológicos demonstraram atividade antiviral do extrato aquoso da casca do caule frente ao vírus do *Herpes*, o extrato aquoso das folhas revelou forte inibição das bactérias *Staphylococcus aureus* e do *Streptococcus pyogenes* e extratos etanólicos das cascas do caule e das folhas apresentaram atividade larvicida e moluscicida (De Oliveira et al. 2006).

Estudos químicos efetuados com as folhas de *E. malaccensis* levaram ao isolamento de quatro flavonóides (Noreen et al. 1998) e dos frutos foram obtidos compostos voláteis (Pino et al. 2004).

Dentro desse contexto, objetivou-se com o presente trabalho avaliar o efeito do extrato de *Eugenia malaccensis* sobre o crescimento micelial dos fungos associados a *Coffea canephora*, *Fusarium* sp e *Penicillium* sp.

Materiais e Métodos

O trabalho foi desenvolvido na Estação Experimental da Embrapa Rondônia, localizada em Porto Velho, no Laboratório de Entomologia (LABEN). O material vegetal, frutos de *E. malaccensis* foram coletados no mês de fevereiro de 2005. Após a coleta as amostras, foram colocadas em etanol 95 % PA. Posteriormente, o solvente foi filtrado e evaporado para obtenção do extrato bruto.

Os fungos foram isolados de frutos café e de brocas provenientes do campo experimental da Embrapa Rondônia. Para o teste biológico utilizamos placas de Petri com 10 ml de meio de cultura BDA. Após a solidificação do meio espalhou-se a solução do extrato na concentração de 50 mg/ml com auxilio de alça de Drygalski. O controle consistiu de ADE e Tween. Uma hora após a aplicação do extrato, os fungos foram inoculados em três pontos de cada placa. Para cada tratamento foram feitas três repetições.

Após 24, 48 e 96 horas de inoculação as colônias foram medidas com auxilio de régua milimetrada para determinação do diâmetro médio.

Resultados e Discussão

Atividade antifúngica do extrato de *E. malaccensis* sobre fungos filamentosos associados a *Coffea canephora*. Neste trabalho foi avaliada a inibição do crescimento micelial de *Fusarium* sp e *Penicillium* sp pela ação do extrato de jambo. Na tabela 1 estão os resultados do ensaio de atividade biológica do referido. Os resultados mostram que o extrato de *E. malaccensis* causou redução significativa do crescimento micelial das colônias de *Fusarium* sp e *Penicillium* sp na concentração avaliada em relação ao tratamento controle. Poucos são os trabalhos sobre a atividade antifúngica do extrato de *E. malaccensis*, mas os estudos fitoquímicos comprovam que o extrato de jambo apresenta atividade fungicida.

De Oliveira et al. 2006, ao realizarem estudo fitoquímico das folhas de *E. malaccensis* identificou substâncias como miricetina e ácido gálico. A miricetina possui ação reconhecida como antiinflamatória, antiviral, antioxidante, antimicrobiana e anticarcinogênica (Kuo, 2005; Barbosa et al, 2006). Para o ácido

gálico foram descritas as ações anticarcinogênica, antialérgica, antiinflamatória e antifúngica (Negi, et al. 2005).

Tabela 1- Média do crescimento micelial (mm) dos fungos associados a *Coffea canephora* tratados com extrato etanólico de *Eugenia malaccensis*.

Crescimento micelial (mm)

Espécies		Tempo (horas)		
		24	48	96
<i>Fusarium</i> sp	controle	7a	8a	12a
	Tratamento	4,5b	5b	7,5b
<i>Penicillium</i> sp	controle	5ns	6a	11a
	Tratamento	4ns	4b	5b

Conclusões

O crescimento micelial dos fungos *Fusarium* sp e *Penicillium* sp foi inibido pela ação do extrato etanólico de sementes de *E. malaccensis* na concentração testada. Posteriormente, mais testes serão realizados para avaliar a atividade do extrato em diferentes concentrações e modo de aplicação.

Referências Bibliográficas

- Barbosa-Filho, J.M; Mediros, K.C.P; Batista, L.M; Athayde-Filho, P.F; Silva, M. S; Cunha, E. V.L, Almeida, J.R.G.S; Quintans-Junior, L.J. Natural products inhibitors of the enzyme acetylcholinesterase. Revista Brasileira de Farmacognosia 16: 258-285, 2006.
- Creppy, E. E. Human ochratoxicosis. Journal of Toxicology-Toxin Reviews, v.18, n.3/4, p.277-293, New York, 1999.
- De Oliveira, M. A; Humberto, M.M.dos S; Silva, J.M. da; Rocha, R.de F.de A; Sant`ana, A.E.G. Estudo fitoquímico e avaliação moluscicida e larvicida dos extratos da casca do caule e folha de *Eugenia malaccensis* L. (Myrtaceae). Revista Brasileira de Farmacognosia, 16(Supl.): 618-624, 2006.
- Fujii, S; Ono, E. Y. S; Hirooka, E. Y. Ochratoxina A em café: controle e metodologia analítica com ênfase a inovação no contexto de segurança alimentar. Semina: Ciências Agrárias, v.23, n.2, p.273-292, Londrina, 2002.
- Gama, F.de C; Teixeira, C. A. D; Garcia, A; Costa, J.N.M, Lima D.K.S. Influência do ambiente na diversidade de fungos associados a *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera, Scolytidae) e frutos de *Coffea canephora*. Arquivo Instituto Biológico, v.72, n.3, p.359-364, São Paulo, 2005.
- Hussein, S.A.M; Hashem, A.N.M; Seliem, M.A; Lindequist U; Nawwar, M.A.M. Polyoxygenated flavonoids from *Eugenia edulis*. Phytochemistry 64: 883-889, 2003.
- Kuo, P.L. Myricetin inhibits the induction of anti-FasIgM-, tumor necrosis factor- α -and interleukin-1 β -mediated apoptosis by Fas pathway inhibition in human osteoblastic cell line MG-63. Life Sci 77: 2964-2976, 2005.
- Leoni, L. A. B; Valente Soares, L. M; Oliveira, P. L. C. Ochratoxin A Brazilian green coffes. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.17, n. 1, 2001.
- Negi, A.S; Darokar, M.P; Chattopadhyay, S.K; Garg, A; Bhattacharya, A.K; Srivastava, V; Khanuja, S.P.S. Synthesis of a novel plant growth promoter from galic acid. Bioorg. Med. Chem. Lett 15:1243-1247, 2005.
- Noreen, Y.S; Serrano, G; Perera, P; Bohlin, L; Flavan-3-ols isolated from some medicinal plants inhibiting COX-1 and COX-2 catalysed prostaglandin biosynthesis. Planta Med. 64: 520-524, 1998.
- Pino,A.P; Rosado, A; Vásquez, C. Volatile constituents of Malay rose apple(*Syzygium malaccense* L. Merr. Perry). Flavour Frag J 19: 32-35, 2004.
- Rodrigues, E. dos A; Schwan-Estrada, K.R.F; Stangarlin, J.R; Scapim, C. A; Fiori-Tutida, A.C.G. Potencial da planta medicinal *Ocimum gratissimum* no controle de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de trigo. Acta Sci. Agron. v. 28, n.2, p.213-220, Maringá, 2006.
- Taniwaki, M. H; Pitt, J. I; Teixeira, A. A. Fungi producing ochratoxin A in coffee. In: International Iupac Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins. 10, 2000, Guarujá. Resumos..., p. 180, 2000.