

# POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO ÓLEO DE CAPIM-LIMÃO (*CYMOPOGON FLEXUOSUS*) NA INIBIÇÃO IN VITRO DE *MACROPHOMINA PHASEOLINA* (TASSI) GOIDANICH.

Joana Vitória Soares Alves<sup>1</sup>; Izabelly Oliveira Silva<sup>2</sup>; Maria Ketna Noronha Nogueira<sup>3</sup>; Elias Ferreira da Silva<sup>4</sup>; Dr. Alvaro Itauna Schalcher Pereira<sup>5</sup>;

## Resumo

As plantas estão cada vez mais suscetíveis a infecções causadas por fungos fitopatogênicos, os quais, devido ao uso contínuo de fungicidas sintéticos, têm desenvolvido resistência. O emprego excessivo desses produtos também provoca contaminação do solo, da água, de alimentos, além de riscos à saúde humana e animal. Diante disso, cresce a busca por alternativas de controle mais sustentáveis, como o uso de óleos essenciais (OEs) extraídos de plantas aromáticas e medicinais. Esses compostos apresentam propriedades antimicrobianas, destacando-se no combate a microrganismos fitopatogênicos sem gerar impactos negativos ao ambiente.

Este projeto de desenvolvimento tecnológico e inovação tem como objetivo avaliar o potencial fungicida do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*) contra o fungo *Macrophomina phaseolina*. Para isso, serão conduzidos bioensaios in vitro, com cinco tratamentos e quatro repetições, totalizando 20 placas. Os tratamentos incluirão concentrações crescentes do óleo (0,00; 5,00; 15,00; 25,00 e 50,00  $\mu\text{L L}^{-1}$ ), avaliando parâmetros como concentração mínima inibitória (CMI), índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), crescimento micelial e esporulação.

Espera-se comprovar que o óleo de capim-limão apresenta elevado potencial inibitório, configurando-se como uma alternativa promissora para o controle de *M. phaseolina*, principalmente em cultivos orgânicos e hidropônicos, onde a sustentabilidade e a ausência de resíduos químicos são prioridades.

## Palavras-chave:

---

<sup>1</sup> Estudante do Curso de bacharelado em agronomia do IFMA Campus codó; E-mail: joanasoares@acad.ima.edu.br.

<sup>2</sup> Estudante do Curso de bacharelado em agronomia do IFMA Campus codó; E-mail: izabellyoliveira@acad.ifma.edu.br.

<sup>3</sup> Estudante do Curso de bacharelado em agronomia do IFMA Campus codó; E-mail: knoronha@acad.ifma.edu.br.

<sup>4</sup> Estudante do Curso de bacharelado em agronomia do IFMA Campus codó; E-mail: Elias.Ferreira@acad.ifma.edu.br.

<sup>5</sup> Dr. Engenharia e ciências de alimentos e professor de química do Campus codó; E-mail: alvaro.pereira@ifma.edu.br.

*Macrophomina phaseolina*. Sustentabilidade. Capim-limão. Óleos essenciais. Fungicida natural.

## **Introdução**

As doenças fúngicas são um dos maiores entraves à produção agrícola, comprometendo a produtividade e a qualidade dos cultivos. Entre os fitopatógenos de destaque, *Macrophomina phaseolina* é responsável por importantes perdas em diversas culturas. O controle convencional baseia-se no uso de fungicidas sintéticos, os quais, embora eficazes, têm favorecido o surgimento de resistência, além de trazer riscos ambientais e toxicológicos.

Nesse cenário, alternativas sustentáveis, como o uso de óleos essenciais, surgem como ferramentas promissoras. O óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*), rico em citral e outros terpenoides, apresenta comprovada atividade antimicrobiana, tornando-se um candidato relevante para o manejo de doenças fúngicas. O presente estudo objetiva avaliar a atividade antifúngica do óleo essencial de capim-limão sobre *M. phaseolina*, por meio de bioensaios in vitro em meio de cultura sólido, utilizando diferentes concentrações do óleo. Serão analisados o crescimento micelial e a esporulação do fungo, buscando determinar a Concentração Mínima Inibitória (CMI). Com isso, espera-se gerar informações que contribuam para o desenvolvimento de práticas agrícolas mais sustentáveis, reduzindo a dependência de fungicidas sintéticos, minimizando impactos ambientais e favorecendo a segurança alimentar.

## **Metodologia**

### **Análise Cromatográfica e Espectrometria de Massas**

O óleo essencial foi analisado por cromatografia gasosa (CG) acoplada a espectrometria de massas (EM) em um sistema GC/MS quadrupolo Agilent 5975C Series (Agilent Technologies, Palo Alto, EUA), equipado com uma coluna apolar DB-5 (Agilent J & W; 60 m × 0,25 mm diâmetro interno, 0,25 µm de espessura de filme). Uma solução de 1 µL de concentração conhecida, contendo o respectivo óleo essencial diluído em hexano, foi injetada no modo split 1:20, bem como uma solução da mistura de padrões de hidrocarbonetos C9–C34, composta por padrões comerciais da Sigma-Aldrich®. A temperatura do GC/MS foi programada para iniciar a 60 °C por 3 minutos, aumentando a uma taxa de 2,5 °C min<sup>-1</sup> até atingir 240 °C, permanecendo nessa temperatura por 10 minutos. O fluxo de hélio foi mantido constante a 100 kPa. A interface do espectrômetro

de massas foi ajustada a 200 °C, e os espectros de massa foram registrados a 70 eV (modo EI), com velocidade de varredura de 0,5 varreduras/s na faixa de m/z 20–350 (Dutra et al., 2016). A partir do tempo de retenção dos compostos presentes na amostra de óleo essencial, no padrão de hidrocarbonetos e na combinação do óleo com a mistura desse padrão, foi calculado o índice de retenção para cada composto.

### **Identificação Química do Óleo Essencial**

Os compostos do óleo essencial foram identificados inicialmente por similaridade dos valores de índice de retenção e, posteriormente, confirmados por comparação dos espectros de massa obtidos com aqueles disponíveis nas bibliotecas de EM do GC/MS: MassFinder 4, NIST08 e Wiley Registry™ 9ª Edição, bem como com os descritos por Adams e Sparkman (2007). As regiões dos picos nos cromatogramas foram integradas, e os valores resultantes foram utilizados para determinar as proporções relativas de cada composto (Gusmão et al., 2013).

### **Percentual de Inibição do Crescimento Radial (PIRG)**

A inibição do crescimento da colônia (PIRG) foi quantificada utilizando a fórmula:

$$\text{PIRG}(\%) = \frac{DC - DT}{DC} \times 100$$

onde:

DC = diâmetro da colônia no tratamento controle (cm)

DT = diâmetro da colônia no tratamento (cm)

### **Análises estatísticas**

As análises estatísticas foram conduzidas em Python (versão 3.x), utilizando as bibliotecas statsmodels, scipy, pandas e matplotlib. Foram aplicados dois métodos principais:

- **Regressão Quadrática (OLS):** para modelar a relação entre concentração e PIRG, permitindo estimar a concentração de máxima inibição pela derivada da equação ajustada.

- **Modelo Probit (GLM):** para estimar as concentrações letais (CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub>) com intervalos de confiança (IC95%), além do parâmetro de inclinação (slope) da curva. O teste de aderência foi realizado por Qui-quadrado de Pearson.

## Resultados e Discussão

O óleo essencial de *C. flexuosus* apresentou composição química dominada pelos monoterpenos oxigenados geranial (38,44%), neral (29,80%) e geraniol (7,10%), além de frações menores de acetato de geranila (5,44%) e  $\beta$ -cariofileno (2,38%), resultando em um rendimento total de 98,52% dos compostos identificados (Tabela 1). A elevada proporção de citrais (geranial + neral), fornece base química consistente para o efeito inibitório observado sobre *M. phaseolina*.

**Tabela 1.** Perfil químico do óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus*.

Nº	Compostos	IR		%
		IR <sup>L</sup>	IR <sup>C</sup>	
1	Tricyclene	921	918	0,14
2	$\alpha$ -Pinene	932	930	0,24
3	Camphene	946	944	1,32
4	<6-methyl-5->	981		1,45
	Hepten-2-one		986	
5	Myrcene	988	990	0,15
6	Limonene	1024	1026	0,37
7	<(Z)- $\beta$ -> Ocimene	1032	1037	0,33
8	<(E)- $\beta$ -> Ocimene	1044	1048	0,18
9	Allyl hexanoate	1079	1072	1,11
10	Terpinolene	1086	1086	0,05
11	Linalool	1095	1099	1,63
12	<exo->Isocitral	1140	1145	0,09
13	<E- $\alpha$ ->Necrodol	1144	1148	0,32
14	Citronellal	1148	1153	0,30
15	Z- Chrysanthenol	1160	1164	1,04
16	Rosefuran epoxide	1173	1175	0,33
17	E-Isocitral	1177	1182	1,15
18	$\alpha$ -Terpineol	1186	1189	0,18

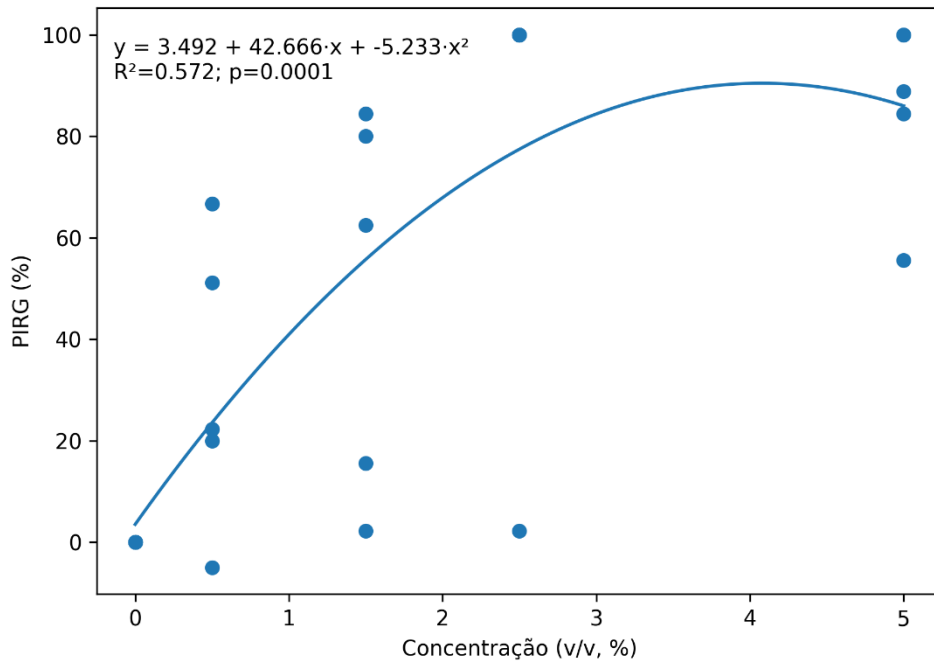
19	<n->Decanal	1201	1205	0,16
20	Citronellol	1223	1229	0,25
21	Neral	1235	1244	29,80
22	Geraniol	1249	1257	7,10
23	Geranial	1264	1274	38,44
24	Cyclosativene	1369	1367	0,14
25	$\alpha$ -Ylangene	1373	1371	0,07
26	Geranyl acetate	1379	1383	5,44
27	$\beta$ -Cubebene	1387	1390	0,18
28	$\beta$ -Elemene	1389	1391	0,18
29	E-Caryophyllene	1417	1419	2,38
30	$\alpha$ -Humulene	1452	1453	0,24
31	Germacrene D	1480	1481	0,23
32	<epi->-Cubebol	1493	1494	0,17
33	$\gamma$ -Cadinene	1513	1514	1,94
34	$\delta$ -Cadinene	1522	1523	0,41
35	<(E)- $\gamma$ ->bisabolene	1529	1532	0,21
36	Elemol	1548	1549	0,05
37	Caryophyllene oxide	1582	1583	0,69
38	Humulene epoxide II	1608	1610	0,06
<b>Total</b>				<b>98,52</b>

**IR<sup>L</sup>** Índice de Retenção de Kratz da Literatura (Adams, 2007);

**IR<sup>C</sup>** Índice de Retenção de Kratz Calculado;

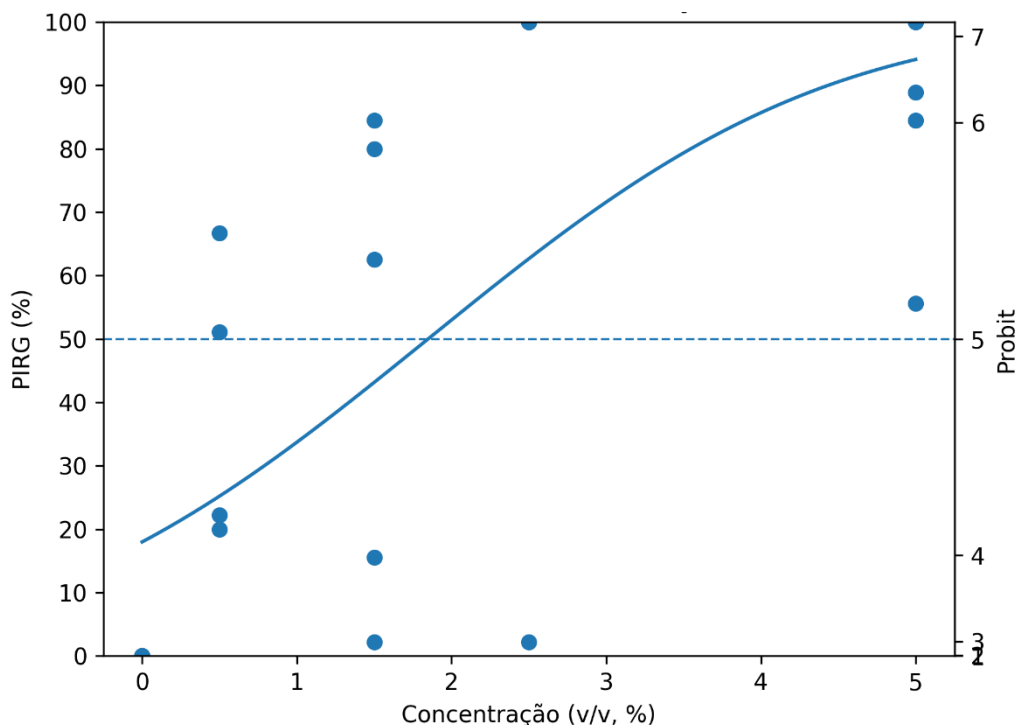
% Porcentagem do composto

Os dados de inibição do crescimento de colônia (PIRG) ajustaram-se ao modelo de regressão quadrática (57% de ajuste), indicando efeito significativo das concentrações do óleo essencial de *C. flexuosus* sobre a inibição do crescimento radial de *M. phaseolina* ( $p < 0,001$ ) (Figura 1). Pela derivação da equação, pode-se estimar a concentração de máxima inibição em aproximadamente 4,07%, valor que se destaca como ponto ótimo para a supressão do crescimento micelial, permitindo o uso de concentrações eficientes sem desperdício de insumos.



**Figura 1.** Ajuste de regressão quadrática para o percentual de inibição do crescimento radial (PIRG) de *Macrophomina phaseolina* em função das concentrações do óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus*.

Através do modelo de pode-se estimar as concentrações letais CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> em 1,85% (1,73-1,96 IC95%) e 4,43% (4,19-4,68 IC 95%), respectivamente (Figura 2). A pequena diferença entre as estimativas de CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> indica que incrementos moderados na concentração do óleo são suficientes para promover aumentos rápidos na inibição do crescimento micelial, caracterizando uma curva dose-resposta relativamente íngreme. Esse perfil é desejável em bioensaios de controle de fitopatógenos, pois sugere eficácia mesmo em faixas de concentração relativamente estreitas.



**Figura 2.** Curva dose–resposta ajustada pelo modelo Probit para o percentual de inibição do crescimento radial (PIRG) de *Macrophomina phaseolina* em função das concentrações do óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus*.

Os achados deste estudo reforçam o potencial do óleo essencial de *C. flexuosus* como uma alternativa sustentável para o manejo de *M. phaseolina*. A curva dose–resposta obtida indica um comportamento biológico caracterizado por resposta rápida a incrementos de concentração, sugerindo elevada sensibilidade do patógeno aos constituintes majoritários do óleo. Esse perfil de resposta é desejável em estratégias de controle, pois possibilita o uso de doses menores, reduzindo custos de aplicação e minimizando impactos ambientais.

A literatura aponta que o efeito antifúngico de óleos ricos em citral está associado a múltiplos mecanismos de ação, incluindo desorganização da membrana plasmática, alteração na permeabilidade celular e inibição de enzimas hidrolíticas envolvidas na patogênese (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009). Estudos recentes demonstraram que a exposição de *M. phaseolina* a óleos essenciais pode reduzir a atividade de celulase e pectinase, enzimas essenciais para penetração e colonização dos tecidos vegetais, levando à diminuição da virulência (KHALEDI et al., 2015). Essa evidência sugere que a ação observada neste trabalho pode envolver não apenas efeitos fungistáticos diretos, mas também a modulação de processos metabólicos do patógeno.

De forma convergente, Figueiredo et al. (2023) destacaram que a utilização de óleos essenciais em sistemas de cultivo proporciona não apenas controle direto de fitopatógenos, mas também benefícios indiretos, como redução do uso de defensivos sintéticos e menor risco de seleção de linhagens resistentes. Nesse sentido, a integração do óleo de *C. flexuosus* em programas de manejo integrado de doenças pode contribuir para uma agricultura mais resiliente e ambientalmente responsável, alinhada às demandas de produção sustentável.

Os resultados evidenciam que o óleo essencial de *C. flexuosus* apresenta elevado potencial antifúngico contra *M. phaseolina*. A concentração de 25 µL/mL (T5) foi a que promoveu a maior inibição observada nos bioensaios, confirmando o efeito dose-dependente do óleo sobre o crescimento micelial. Além disso, a concentração de máxima

inibição estimada pelo modelo (4,07%) e os valores calculados de CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> (1,85% e 4,43%, respectivamente) reforçam que pequenas quantidades do óleo são suficientes para reduzir de forma significativa o desenvolvimento do fungo. Esse desempenho evidencia a eficiência do óleo como fungicida natural e destaca seu potencial para ser incorporado em programas de manejo sustentável de doenças.

### **Conclusão**

O óleo essencial de *C. flexuosus* apresentou expressiva atividade antifúngica contra *M. phaseolina*, com estimativas de CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> que evidenciam alta eficácia em concentrações relativamente baixas. A determinação da concentração ótima de 4,07% para máxima inibição micelial representa um dado importante para recomendações técnicas, permitindo o uso racional de bioinsumos. Esses achados confirmam o potencial desse óleo essencial como uma alternativa viável no manejo integrado de doenças de solo, possibilitando a redução da necessidade de fungicidas sintéticos e contribuindo para uma agricultura mais sustentável.

### **Referências**

ADAMS, R.; SPARKMAN, O. Review of identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 18, p. 803–806, 2007.

DUTRA, K. A.; OLIVEIRA, J. V.; NAVARRO, D. M. A. F.; BARBOSA, D. R. S.; SANTOS, J. P. O. Control of *Callosobruchus maculatus* (FABR.) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) in *Vigna unguiculata* (L.) WALP with essential oils from four *Citrus* spp. plants. **Journal of Stored Products Research**, v. 68, p. 25–32, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2016.04.001>

GUSMÃO, N. M. S.; OLIVEIRA, J. V.; NAVARRO, D. M. A. F.; DUTRA, K. A.; SILVA, W. A.; WANDERLEY, M. J. A. Contact and fumigant toxicity and repellency of *Eucalyptus citriodora* Hook., *Eucalyptus staigeriana* F., *Cymbopogon winterianus* Jowitt and *Foeniculum vulgare* Mill. essential oils in the management of *Callosobruchus maculatus* (FABR) (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 54, p. 41–47, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2013.02.002>

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, p. 588–594, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000300005>

FIGUEIREDO, A. R. de; SILVA, L. R. da; MORAIS, L. A. S. de. Atividade antifúngica de óleos essenciais frente a *Macrophomina phaseolina*. **Nativa**, v. 11, n. 1, p. 1–7, 2023. DOI: <https://doi.org/10.31413/nativa.v11i1.13811>

KHALEDI, N.; HASHEMZADEH, F.; ZAMANIZADEH, H. R.; ZAHIRI, A. R. Antifungal activity of some essential oils against *Macrophomina phaseolina*, the causal agent of charcoal rot disease in soybean. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 48, n. 7, p. 571–578, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1080/03235408.2015.1010537>