

Bioatividade de óleos essenciais e extratos de plantas no controle de *Botrytis cinerea* isolado de morango

Leonardo de Alexandre¹, Rafael Deinani Pegorini²; Marcia Regina Pansera³,
Valdirene Camatti Sartori⁴, Murilo Cesar dos Santos⁵

Universidade de Caxias do Sul – UCS, E-mail: ledealexandre@bol.com.br¹; E-mail: pegorini75@gmail.com²; E-mail: mrpancer@ucs.br³; E-mail: vcsartor@ucs.br⁴; E-mail: mcsantos3@ucs.br⁵

Resumo: A produção de morangos se expande a cada ano, predominando o cultivo em pequenas propriedades rurais, com a mão-de-obra familiar. Devido à suscetibilidade das principais cultivares plantadas a diversas doenças tem sido praticado o uso intensivo de agrotóxicos na cultura do morangueiro, e uma das doenças fúngicas é o Mofo cinzento, causado pelo fitopatógeno *Botrytis cinerea*. Deste modo, objetivou-se estudar, *in vitro*, o efeito dos óleos essenciais das plantas *Cymbopogon citratus* e *Foeniculum vulgare* e os extratos fermentados das plantas *Aloysia citriodora*, *Ipomoea batatas* L., *Ilex paraguariensis*, *Capsicum* sp., *Pereskia aculeata*, *Conyza bonariensis*, *Pothomorphe umbellata* e *Schinus terebinthifolius* como alternativa de controle do *Botrytis cinerea*. Os óleos essenciais foram diluídos nas concentrações de 0,01; 0,05; 0,10; 0,15 e 0,20% e a testemunha e incorporados ao meio de cultura BDA. O extrato fermentado foi filtrado e incorporado ao meio BDA, nas concentrações 10, 20 e 40%. As placas foram mantidas em BOD, por 14 dias, à temperatura de 26°C e fotoperíodo de 12 horas. As avaliações do crescimento micelial foram realizadas no 3º, 7º e 14º dia. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Os testes realizados demonstraram que o óleo essencial de *C. citratus* e *F. vulgare* inibiram o crescimento micelial do fitopatógeno em 90%. Os extratos fermentados não inibiram o crescimento micelial do *B. cinerea*.

Palavras-chave: Controle alternativo; fitopatógeno; mofo cinzento

INTRODUÇÃO

Um dos grandes problemas relacionados à cultura do morango e seu manejo, principalmente pela presença significativa de doenças fúngicas, associada ao reduzido número de produtos registrados. Destas doenças, o mofo cinzento, causado pelo fungo *Botrytis cinerea*, destaca-se por acometer o morango desde o campo até a pós-colheita. Para o controle destas doenças, as aplicações de fungicidas são feitas, na maioria das vezes, de maneira incorreta e excessiva,

ocasionando problemas de contaminação, além da resistência de fungos a determinados princípios ativos (CRUZ et al, 2012). No entanto, frente a preocupação com os danos que esses produtos causam, há um aumento na demanda por pesquisas que visam o controle alternativo de fitopatógenos, onde relatam que os óleos essenciais e extratos de plantas são eficientes em inibir a atividade microbiana. Extratos de plantas já foram testados sobre fitopatógenos por meio de sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial, formação de apressório, a germinação de esporos dos fungos e, ainda, efeito sobre a planta pela capacidade de induzir o acúmulo de fitoalexinas em mecanismos de resistência (BONA et al., 2014). Óleos essenciais extraídos de plantas representam um protetor natural alternativo no controle integrado de doenças de fruteiras, visto que experimentos têm mostrado a eficiência desses óleos no controle de diversos patógenos. Desta forma, objetivou-se estudar, *in vitro*, o efeito dos óleos essenciais das plantas *Cymbopogon citratus* (capim limão) e *Foeniculum vulgare* (funcho) e os extratos fermentados das plantas *Aloysia citriodora* (erva-luiza), *Ipomoea batatas* L. (batata-doce), *Pereskia aculeata* (ora-pro-nobis), *Ilex paraguariensis* (erva-mate), *Capsicum* sp. (pimenta), *Conyza bonariensis* (buva), *Pothomorphe umbellata* (pariparoba) e *Schinus terebinthifolius* (Schinus) como alternativa de controle do agente *Botrytis cinerea*, causador do Mofo Cinzento em morango.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Fitopatologia da Universidade de Caxias do Sul/RS, com o fitopatógeno *B. cinerea* (A37/17). Utilizou-se o método analítico *in vitro*, onde avaliaram-se o efeito do óleo essencial e/ou extratos fermentados das plantas sobre o crescimento e/ou inibição micelial do fitopatógeno testado.

Os óleos essenciais das plantas *C. citratus* e *F. vulgare* foram extraídos pelo método de Hidrodestilação em aparelho de Clevenger, durante 1 hora. As concentrações dos óleos essenciais foram expressas em mg/mL, ou seja, 0,01; 0,05; 0,10; 0,15; 0,20. Os óleos essenciais foram adicionados ao meio de cultura BDA fundente, e em seguida vertidos em placas de Petri. Como testemunha utilizou-se apenas o meio BDA. Após a solidificação do meio, fez-se a transferência de discos de 5 mm de diâmetro, contendo estruturas do fitopatógeno.

Para o extrato fermentado das plantas erva-luiza, batata-doce, erva-mate, pimenta, ora-pro-nóbis, buva, pariparoba e Schinus fragmentou-se 500 g da planta fresca, com 1,5 L de água não tratada. Esta mistura foi acondicionada em um frasco de vidro de 5 L, coberto com gaze. A fermentação ocorreu de maneira espontânea e aeróbica. A mistura foi mantida em ambiente escuro por 15 dias, sendo agitada uma vez ao dia. A avaliação *in vitro* da atividade fungitóxica dos extratos fermentados botânicos sobre o crescimento micelial dos fungos ocorreu da seguinte maneira: O fermentado foi filtrado e incorporado ao meio BDA, nas concentrações

10, 20 e 40% e vertido em placas de Petri onde foram incorporados discos de 5 mm colonizados com os fungos de interesse, e em outras contendo somente BDA como testemunha. As placas com o fitopatógeno, tanto dos óleos essenciais quanto dos extratos, como do fungicida, permaneceram em Câmara de Germinação (BOD) durante 14 dias, em fotoperíodo de 12 h, à temperatura de 26° C. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado, com 6 tratamentos e 5 repetições, sendo cada parcela constituída por uma placa de Petri. O diâmetro micelial do crescimento das colônias foi medido com o uso de paquímetro digital no 3º, 7º e 14º dia após inoculação do fungo e assim calculada a porcentagem de controle (inibição) pela seguinte equação: $[(\varnothing\text{Testemunha} - \varnothing\text{Tratamento}) / \varnothing\text{Testemunha}] * 100$. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e em caso de significância as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da atividade fungitóxica dos óleos essenciais das plantas capim limão e funcho sobre o crescimento micelial do fitopatógeno *B. cinerea* estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Avaliação do crescimento micelial de *B. cinerea* em meio de cultura acrescido dos óleos essenciais de Capim limão e Funcho em relação ao diâmetro da colônia do fungo e a porcentagem de controle do fitopatógeno *B. cinerea*.

Concentrações	Capim limão		Funcho	
	Diâmetro	%Controle	Diâmetro	%Controle
0,01	74,05a	15,88b	55,38a	28,25b
0,05	0,00b	90,00a	51,75a	41,19b
0,10	0,00b	90,00a	0,00b	90,00a
0,15	0,00b	90,00a	0,00b	90,00a
0,20	0,00b	90,00a	0,00b	90,00a
Testemunha	78,25b	0,00c	78,25a	0,00c
F/Trat	95,95**	169,34**	14,59**	19,93**
C.V. (%)	35,38	11,7	66,4	34,49

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Os testes realizados *in vitro* demonstraram que tanto o óleo essencial de capim limão quanto o de funcho inibiram o crescimento micelial do fitopatógeno testado. A elevada eficiência do óleo essencial de capim-limão também foi relatada por Santos et al. (2010) ao determinarem a fungitoxicidade *in vitro* dos óleos essenciais de capim-limão (*C. citratus*) e citronela (*C. nardus*), em concentrações que variaram

de 250 a 1250 ppm, sobre o fungo *Helminthosporium* sp. Os óleos essenciais de capim-limão e funcho nas concentrações de 0,10; 0,15 e 0,20% não diferiram entre si, apresentando efeito fungicida, ou seja, diferindo da testemunha. Segundo Machado et al. (2013) há uma relação dose-dependente nos casos em que ocorre a inibição gradativa do fitopatógeno com o aumento das concentrações testadas. Lorenzetti et al. (2011) determinaram o efeito de diferentes óleos essenciais, dentre eles o de capim-limão, canela, alecrim e menta, sobre a germinação de conídios do fungo *B. cinerea*, relatando que os dois primeiros foram mais eficientes, chegando a inibir a germinação de isolados resistentes. Os óleos essenciais possuem baixo risco ao ambiente, produtores e consumidores, além de não favorecerem o desenvolvimento de resistência do patógeno. Segundo Rozwalka (2008), com base em porcentagens de inibição, foi observada redução do efeito fungitóxico dos óleos essenciais de alfavaca (de 52,0% para 24,7%), funcho (de 84,8% para 20,9%) e lípia (de 69,3% para 25,9%) sobre o crescimento micelial de *Glomerella cingulata*, do terceiro ao oitavo dia. Os óleos essenciais de capim-limão e funcho apresentam efeito fungitóxico, podendo ser utilizados no controle do mofo-cinzento.

Os extratos fermentados das plantas erva-luiza, ora-pro-nobis, batata-doce, erva-mate, pimenta, pariparoba e Schinus não demonstraram resultados significativos, igualando-se à testemunha. Dados de Garcia (2012) com o uso de extrato de bardana sobre *C. cingulata* e extratos de tansagem, sabugueiro e hortelã sobre *C. gloeosporioides* apresentaram crescimento micelial superior em relação ao controle (testemunha). Fato observado nesta pesquisa, para os extratos fermentados sobre o patógeno *B. cinerea*, o qual apresentou crescimento superior em meio de cultura. A atividade antifúngica pode estar associada à ação sinérgica (sinergismo) de dois ou mais compostos presentes. Assim, os compostos encontrados neste estudo podem atuar isoladamente ou conjuntamente para a inibição do crescimento micelial do fitopatógeno. Devido à presença de metabólitos que podem apresentar atividade antifúngica, é recomendável a continuação do estudo fitoquímico dos extratos fermentados para isolamento e identificação de substâncias responsáveis pela atividade e determinar suas frações ativas. Contudo, novas pesquisas devem ser realizadas tendo em vista que tais estudos ainda são escassos, visando à investigação fitoquímica de extratos vegetais, no controle de agentes fitopatogênicos.

CONCLUSÕES

A inibição total ou parcial do crescimento micelial do *B. cinerea*, *in vitro*, evidenciou a existência de compostos biologicamente ativos, com efeito fungicida, nas duas plantas medicinais e aromáticas utilizadas na forma de óleos essenciais: *C. citratus* (capim limão) e *F. vulgare* (funcho). Isto indica uma aplicação potencial no controle alternativo do mofo cinzento no morango. Os extratos fermentados utilizados neste



trabalho não demonstraram resultados estatisticamente viáveis no controle do mofo cinzento do morangueiro.

REFERÊNCIAS

BONA, E.A.M.; SILVA PINTO, F.G.; FRUET, T.K.; JORGE, T.C.M.; MOURA, A.C. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. Arquivos Instituto Biológico, São Paulo, 81:3:218-225, 2014.

CRUZ, T.P. MENDONÇA, R.F.; SILVA, L.G.; RODRIGUES, C.; ALVES, F.R. Avaliação da atividade de extratos aquosos de canela, cravo e alho sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. zingiberi. Enciclopédia Biosfera, 8:15:237-247, 2012.

GARCIA, R.A.; JULIATTI, F.C.; BARBOSA, K.A.G.; CASSEMIRO, T.A. Atividade antifúngica de óleo e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. Biosci. J., Uberlândia, 28:1: 48-57, 2012.

MACHADO, R.M.A.; DIAS, V.M.; SOUZA, C.L.M.; SILVA, L.B.; FREIRE, M.G.M. Avaliação de óleos essenciais sobre o crescimento in vitro do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. Perspectivas online. 8:3:64-75, 2013.

ROZWALKA, L.C. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. Ciência Rural, 38:2-9, 2008.

SANTOS, A.C.A.; ROSSATO, M.; SERAFINI, L.A.; BUENO, M.; CRIPPA, L.B.; SARTORI, V.C.; DELACASSA, E.; MOYNA, P. Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul. Revista Brasileira de Farmacognosia, 20:2:154- 159, 2010.