

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE *in vitro* DE *Colletotrichum* sp ISOLADO DE FRUTOS DE BANANA

Cleidineia dos Santos Souza¹, Fábiana Silva de Oliveira Lima², Thávio Júnior Barbosa Pinto³, Valdinez Pereira Feitoza⁴, Eduardo Carvalho Dias⁵, Valdir Ribeiro Correia⁶

¹Estudante do Curso Superior de Engenharia Agrônômica – IFTO- *Campus* Dianópolis. Bolsista do Programa de Iniciação Científica. e-mail: <cleidysouza90@gmail.com>

²Professor– IFTO- *Campus* Dianópolis. e-mail: <fábiana.lima@ifto.edu.br>

³Estudante do Curso de Engenharia Agrônômica – IFTO- *Campus* Dianópolis. Bolsista do Programa de Iniciação Científica. e-mail: <thaviojunior@gmail.com>

⁴Servidor– IFTO- *Campus* Dianópolis. <e-mail: <valdinez.feitoza@ifto.edu.br>

⁵Professor– IFTO- *Campus* Dianópolis. <e-mail: <eduardo.dias@ifto.edu.br>

⁶Professor– IFTO- *Campus* Dianópolis. <e-mail: <valdir.correia@ifto.edu.br>

Resumo: A doença antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum* sp causa perdas significativas em vários sistemas de plantio. O controle químico é um dos meios de manejo mais prático e utilizado, no entanto, seu uso em excesso e inapropriado tem trazido efeitos colaterais ao meio ambiente e a população humana. Pesquisas têm buscado métodos alternativos de controle de doenças de plantas com efeitos menos danosos e mais sustentáveis. O objetivo dessa pesquisa foi avaliar o efeito *in vitro* de óleos essenciais extraídos de várias espécies vegetais como método alternativo de controle do fungo *Colletotrichum* sp isolado de frutos de banana. Cultura pura do fungo foi cultivada em meio de cultura batata, dextrose e ágar (BDA) contendo 0,5% dos óleos essenciais de hortelã, eucalipto, alecrim, capim-limão, citronela e cravo. Fungo cultivado em meio BDA sem adição de óleo serviu como controle. O fungo foi mantido em estufa a 25°C por 8 dias e seu crescimento micelial (diâmetro da colônia) mensurado e comparado com o controle. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey a 5% de probabilidade. Óleos essenciais de hortelã, capim-limão, citronela e cravo inibiram completamente o crescimento do fungo. Os óleos essenciais de alecrim e eucalipto reduziram o crescimento do fungo em 68% e 33%, respectivamente. Os resultados apontam o potencial desses óleos essenciais e ou seus metabólitos no controle alternativo desse importante fitopatógeno.

Palavras-chave: antracnose, controle, doenças pós-colheita, fungos, manejo alternativo.

1 INTRODUÇÃO

O setor de fruticultura tem grande importância no agronegócio brasileiro, com destaque para a banana, em que o Brasil figura entre os três maiores produtores mundiais (FAO, 2014). Perdas devido ao ataque de pragas e doenças podem impactar significativamente a produção de bananas. Entre os fitopatógenos da cultura, os fungos destacam-se como os mais importantes e mais abundantes em número de espécies causadoras de doenças. Esses patógenos representam cerca de 70% das doenças de plantas e atualmente mais de 8000 espécies de fungos têm sido catalogadas, algumas com impacto negativo em várias espécies de plantas (ZAMBOLIM & COSTA, 2006). Danos e perdas expressivos têm sido relatados em vários cultivos comerciais. Perdas significantes na ordem de 5 a 50% de frutas em doenças pós-colheita têm sido relatadas no Brasil, afetando o custo de produção e o agronegócio brasileiro (ZAMBOLIM & COSTA, 2006, ZAMBOLIM et al., 2002, ELGORBAN et al., 2015).

A doença antracnose da bananeira, causada pelo fungo *Colletotrichum* sp, é uma das mais



importantes e causa perdas significativas, além de depreciar frutos e afetar o seu valor comercial (ARAÚJO et al., 2018). A doença caracteriza-se pela formação de lesões escuras e deprimidas e pode atacar, além de frutos, folhas, pecíolos e brácteas. O controle é feito de forma integrada com métodos culturais e químicos (ARAÚJO et al., 2018).

Para diminuir a dependência do controle químico e fomentar o consumidor a buscar por alimentos com menor resíduos de agrotóxicos e saber suas procedências, métodos alternativos no controle de fitopatógenos têm sido pesquisados. Estes métodos alternativos de controle incluem resistência natural, controle cultural, físico, biológico e produtos não convencionais e têm sido utilizados com eficiência em alguns casos, no entanto, apresentam restrições para determinadas regiões de cultivos e culturas (ZAMBOLIM & COSTA, 2006).

O objetivo dessa pesquisa foi testar o efeito *in vitro* de óleos essenciais no controle do fungo *Colletotrichum* sp, agente causal da doença antracnose em bananeira.

2 METODOLOGIA

Fontes de óleos essenciais e do fungo *Colletotrichum* sp.

Óleos essenciais extraídos das plantas hortelã pimenta (*Mentha piperita*), eucalipto (*Eucalyptus globulus*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*), citronela (*Cymbopogon nardus*) e cravo (*Eugenia caryophyllus*) foram obtidos em farmácia de manipulação em Luís Eduardo Magalhães, Bahia.

O fungo *Colletotrichum* sp foi isolado de frutos de banana do grupo Prata com sintomas de antracnose e cultivado em meio de cultura batata, dextrose e ágar (BDA). A identificação do fungo a nível genérico foi feita de acordo com Sutton (1980) usando parâmetros morfológicos. Para confirmação da doença, foi feito o teste de patogenicidade de acordo com Soares (2016). Conídios do fungo na concentração de 2×10^6 conídios/mL⁻¹ foram inoculados em banana (Prata) no estágio de maturação 3. Frutos foram esterilizados com álcool 70% e hipoclorito de sódio a 2% por 2 minutos, lavados com água destilada, autoclavada, secos ao ar e inoculados com 25 µL⁻¹ da suspensão de conídios do fungo. Os frutos foram incubados em câmara úmida a 25°C por 48 horas e deixados em temperatura ambiente até o desenvolvimento dos sintomas.

Teste *in vitro* da eficiência de óleos essenciais no controle de *Colletotrichum* sp.

O experimento foi realizado no IFTO- Campus Dianópolis, Laboratório de Fitopatologia, de acordo com metodologias descritas por Hillen et al. (2012). Os autores desta pesquisa contribuiram

igualmente com o planejamento, execução, análise e escrita dos resultados. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com sete tratamentos e quatro repetições. Cubos de BDA de 0,5 cm contendo cultura pura do fungo foram colocados no centro de cada placa de Petri contendo meio BDA com adição de 0,5% dos óleos essenciais de cada espécie vegetal mencionada no item 2.1. Óleos essenciais foram esterilizados em membrana Milipore (0,2 mm) e adicionados ao meio BDA a temperatura de 50°C. Foi adicionado ainda Tween 20 (1%) para facilitar a dispersão do óleo no meio de cultura. Fungo cultivado em meio BDA sem adição de óleo + 1% Tween 20 serviu como controle. O fungo foi cultivado em estufa a 25°C por 8 dias e seu crescimento micelial (diâmetro da colônia) mensurado aos 4 e 8 dias após inoculação e comparados com o controle. Os dados foram submetidos à análise de normalidade, variância e teste de médias (Tukey) a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

No teste de patogenicidade em frutos de banana o fungo *Colletotrichum* sp mostrou-se patogênico e causou lesões escuras e deprimidas com a presença de frutificações rosadas, sintomas típicos da doença antracnose nesta hospedeira.

Os Óleos essenciais de hortelã, capim-limão, citronela e cravo inibiram totalmente o crescimento do fungo *Colletotrichum* sp. aos 4 e 8 dias após inoculação (Tabela 1, Figura 1).

Os óleos essenciais de alecrim e eucalipto mostraram-se menos eficientes em inibir o crescimento do fungo, no entanto, houve redução do crescimento na ordem de 68% e 33%, respectivamente, comparados com o controle (Tabela 1, Figura 1).

Tabela 1– Efeito de óleos essenciais no crescimento *in vitro* de *Colletotrichum* sp isolado de frutos de banana

Tratamentos/óleos essenciais	Diâmetro da colônia (cm) ^a			
	Dias após inoculação		Redução no crescimento (%)	
	Quatro	Oito	Quatro dias	Oito dias
Controle ^b	8,09 a	9,2 a	-	-
Hortelã	0,0 c	0,0 d	100	100
Eucalipto	2,98 b	6,1 b	63,12	33,62
Alecrim	1,01 c	2,9 c	87,62	68,44
Capim-limão	0,0 c	0,0 d	100	100
Citronela	0,0 c	0,0 d	100	100
Cravo	0,0 c	0,0 d	100	100
Teste F	28,72**	41,31**	-	-
C.V.(%) ^c	1,74	1,40	-	-

^aOs dados representam a média do diâmetro da colônia (em cm) (n=4) medidos aos 4 e 8 dias após cultivo em meio batata-dextrose-ágar (BDA) e mantidos em estufa BOD a 25°C. ^bFungo cultivado em meio BDA, sem

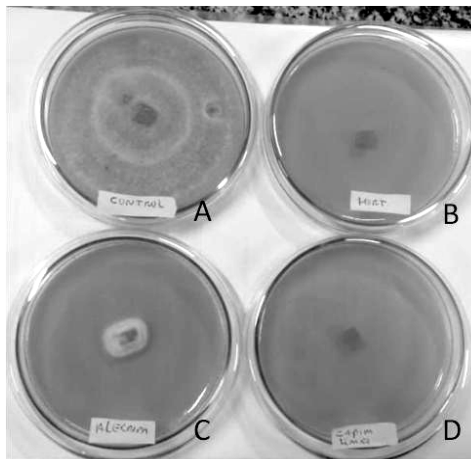


Figura 1 – Efeito de alguns óleos essenciais testados neste estudo no crescimento *in vitro* de *Colletotrichum* sp isolado de frutos de banana. A- controle: somente meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA); B- Óleo essencial de hortelã. C- Alecrim e D- Capim-limão. Os dados representam o crescimento micelial do fungo aos 8 dias após cultivo a 25°C.

Os resultados são similares a outros estudos que relataram o efeito antimicrobiano de extratos e óleos vegetais contra grupos específicos de fungos fitopatogênicos (HILLEN et al., 2012, SOARES, 2016, ARAÚJO et al., 2018).

Métodos de controle de fitopatógenos baseados em produtos sintéticos como fungicidas são, no geral eficientes, porém, com grande efeito colateral para o ambiente e o ser humano (ZAMBOLIM & COSTA, 2006). A resistência genética é uma opção eficiente, barata, sem efeito colateral e que tem sido utilizada no manejo de fungos. No entanto, apresenta restrições, tais como: disponibilidade para as mais variadas culturas e regiões de cultivo.

Em contrapartida, os métodos de controles alternativos, incluindo controle biológico, cultural e produtos fitoterápicos como extratos e óleos essenciais têm sido pesquisados com êxito em alguns estudos (WILSON et al., 1997, SCHWAN-ESTRADA et al., 2000, DINIZ et al., 2008, ALMEIDA et al., 2009, SILVA et al., 2010, ANTUNES & CARVALHO, 2010; HILLEN et al., 2012, SOARES, 2016, ARAÚJO et al., 2018). Portanto, novos estudos ampliando a área de conhecimento sobre o controle de fitopatógenos, usando métodos alternativos são importantes para uma agricultura sustentável e economicamente viável.

Produtos naturais eram utilizados com frequência na década de 1940, no entanto, com a chegada dos agroquímicos, estes deram lugar a defensivos sintéticos amplamente utilizados pela sua praticidade (SILVA et al., 2010). Atualmente, vários produtos à base vegetal têm sido estudados com potencial no controle de doenças humanas e vegetais. Esses produtos têm a vantagem de ser seletivos

contra inimigos naturais, baixa toxicidade e relativa eficiência contra patógenos (SILVA et al., 2010).

No entanto, testes adicionais são necessários para a padronização de metodologias na obtenção desses produtos e sua aplicação final (SILVA et al., 2010). Óleos essenciais com potencial de controle de patógenos poderão servir de matéria prima para síntese de compostos que sejam menos danosos ao meio ambiente e aos humanos.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O controle químico de fitopatógenos é amplamente utilizado na agricultura devido a sua eficiência e praticidade, no entanto, devido a riscos iminentes de contaminação a consumidores e ao ambiente, tem havido buscas por métodos alternativos de controles, com visão voltada à consciência agroecológica e sustentável. A descoberta de um ou mais óleos essenciais com potencial de controle de fungos fitopatogênicos é importante para os sistemas de produção agrícola no Brasil e região, com aplicação prática no manejo desses patógenos, além da possibilidade de síntese de algum subproduto com menos efeito colateral ao ambiente e ao homem. Produtos promissores poderão ser indicados na prática ou servir de base para síntese de compostos antimicrobianos.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, T.F.; CAMARGO, M.; PANIZZI, R. C. **Efeito de extratos de plantas medicinais no controle de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da flor preta do morangueiro.** Summa Phytopathologica 35: 196-201, 2009.
- ANTUNES, M.D.C.; CARVALHO, A. **The use of essential oils for postharvest decay control. A review.** Flavour Fragrance Journal 25: 351-366, 2010.
- ARAÚJO, A.C.; TOLEDO, E.D.; SOARES, W.R.O. **Produtos alternativos no controle de *Colletotrichum* spp. isolados de manga e banana.** Cientific@ Multidisciplinary Journal 5: 104-122, 2018.
- DINIZ, S.P.S.S.; COELHO, J.S.; ROSA, G.S.; SPECIAN, V.; OLIVEIRA, R.C., OLIVEIRA, R.R. **Bioatividade do óleo essencial de *Mentha arvensis* L. no controle de fungos fitopatógenos.** Revista Brasileira de Plantas Medicinais 10:9-11, 2008.
- ELGORBAN, A.M.; BAHKALI, A.H.; EL-METWALLY, M.A.; Elsheshtawi, M.; abdelwahab, M. **In vitro antifungal activity of some plant essential oils.** International Journal of Pharmacology 11:56-61, 2015.
- FAO. **The state of food insecurity in the world**, p. 12. 2014.
- HILLEN, T.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Mesquini, R.M.; Cruz, M.E.S.; Stangarlin, J.R. **Atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle de alguns fitopatógenos fúngicos in vitro e no tratamento de sementes.** Revista Brasileira de Plantas Medicinais 14: 439-445, 2012.



SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E. **Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos.** Revista Floresta 30: 129-137, 2000.

SILVA, M. B.; MORANDI, M. A. B.; JUNIOR, T. J. P.; VENZON, M.; FONSECA, M.C.M. **Extratos de plantas e seus derivados no controle de doenças e pragas.** In VENZON, M.; JUNIOR, T.J.P.; PALLINI, A. (Eds.). Controle alternativo de pragas e doenças na agricultura orgânica. Epamig, pp. 33-53, 2010.

SOARES, M.G.O. **Padronização da inoculação e controle da antracnose em bananas com películas a base de fécula de mandioca e óleos essenciais.** Dissertação (Mestrado). Lavras-UFLA, 2016. 99p.

SUTTON, BC. **The Coelomycetos.** Fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. CMI, KEW, 696 p, 1980.

WILSON, C.L.; SOLA, J. M.; GHAOUTH, E.L.; WISNIEWSKI, M.E. **Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*.** Plant Disease 81:204-210, 1997.

ZAMBOLIM, L.; COSTA, H.; VENTURA, J.A.; VALE F.X.R. **Controle de doenças em pós-colheita de fruteiras tropicais.** In ZAMBOLIM, L. Manejo Integrado de Doenças e Pragas: Fruteiras Tropicais. Viçosa. 443-512, 2002.

ZAMBOLIM, L.; COSTA, H. **Manejo integrado de doenças do morangueiro.** In CARVALHO, S.P. (Ed). Boletim do morango: Cultivo convencional, segurança alimentar, cultivo orgânico. Belo Horizonte- FAEMG: 55-80p, 2006.