

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE GURUPI  
MESTRADO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

**EFEITO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DE FUNGOS  
FITOPATOGÊNICOS**

**RÚBIA BORGES CRUZ SARMENTO BRUM**

**GURUPI-TO  
JANEIRO DE 2012**

**RÚBIA BORGES CRUZ SARMENTO BRUM**

**EFEITO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DE FUNGOS  
FITOPATOGÊNICOS**

Dissertação apresentada ao Mestrado em Produção Vegetal da Universidade Federal do Tocantins, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal - Área de Concentração em Fitopatologia.

**GURUPI-TO  
JANEIRO DE 2012**

Trabalho realizado junto ao curso de Mestrado em Produção Vegetal da Universidade Federal do Tocantins, sob a orientação do Prof<sup>o</sup> Dr. Gil Rodrigues dos Santos, com o apoio financeiro CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

**Banca examinadora:**

---

**Prof. Dr. Gil Rodrigues dos Santos**

Universidade Federal do Tocantins (Orientador)

---

**Prof. Dr. Henrique Guilhon de Castro**

Universidade Federal do Tocantins (Co-Orientador)

---

**Prof. Dr. Renato de Almeida Sarmiento**

Universidade Federal do Tocantins – Campus de Gurupi

---

**Dra. Dione Pereira Cardoso**

PRODOC/Capes/Produção Vegetal - UFT

A **Deus**, que me concedeu a vida, que me colocou nos braços quando desanimei e chorei, pegou na minha mão quando encontrei pedras no caminho, esteve presente em toda a estrada que percorri até aqui, e sei que sempre estará com o seu olhar de pai sobre mim.

Ao **Bruney**, meu amor e companheiro fiel, presente de Deus na minha vida.

Aos melhores pais do mundo, **Grigório e Élia**, que me amam incondicionalmente.

À **Beta**, irmã e amiga, colaboradora e encorajadora, que tanto amo.

Aos professores **Gil e Henrique**, que não mediram esforços para tirar de seu tempo e me atender, tirando as minhas dúvidas e acrescentando conhecimento.

Aos colegas **Eve, Francis, Dalmarcia, Clebson, Carlos e Ani**, que se tornaram grandes amigos, que serão inesquecíveis e insubstituíveis.

Aos familiares que torceram e oraram por mim, em especial **Beto**,

**Sú, Rone, tia Nira, tio Kim, Sérgio (papis), Eliane (mamis),**

**Ramonzito, Mai e Roneyzito.**

Aos amigos e irmãos da **Cia de Teatro Hágios**, pelas orações e as distrações dos ensaios de sexta-feira.

**DEDICO.**

## AGRADECIMENTOS

Quando iniciamos uma caminhada sabemos que temos uma missão a cumprir. Há de se saber que é fundamental planejar o começo, o meio e o final da jornada a ser cumprida.

Ao caminhar, percebemos o quanto é valioso e importante para se cumprir o trajeto enxergar o que está à margem da longa estrada. Neste mestrado, na estrada central estava o estudo, a pesquisa, o trabalho que se encerra no conhecer um pouco mais da ciência e colaborar para seu desvelamento diante dos olhos da humanidade. À margem estavam os ornamentos tão necessários para que a caminhada se completasse: sorrisos, aplausos, olhares, palavras, abraços, mãos estendidas, orações, paciência, choro compartilhado, dúvidas esclarecidas, fé, elogios e críticas que me fizeram repensar e crescer.

Agradeço a **Deus** que me sustentou e me presenteou com pessoas que foram fundamentais para que esse caminho fosse completado com êxito. **Bruney**, meu amado esposo, obrigada pela paciência, conselhos, encorajamento e ajuda em todas as tarefas que cabiam a mim, mas você com todo o seu amor se dispôs a fazê-las. **Pai e mãe**, mesmo de longe, vocês souberam me encorajar, se alegraram com meus acertos, choraram com minhas angústias, torceram, acreditaram e oraram. **Roberta**, minha amada irmã, você estava lá no início, quando eu ainda tinha dúvida se começava ou não essa trajetória, e me ajudou a optar por fazê-la. **Evelynne, Francismar, Dalmácia, Clebson, Carlos, Anielle, Paula, Kamilla, Helem Karoline, Dione, Elen, Érika** e todos os outros companheiros do Laboratório de Fitopatologia e do Programa de Mestrado em Produção Vegetal, vocês foram incríveis em tudo que fizeram por mim. Colegas da Quinta Turma, especialmente **Leciany, Flávia e Carlos**, pelo companheirismo. **Ramon e Maiella**, cunhados amados, que dispuseram do seu tempo para corrigir cada Abstract. Professores do Mestrado Produção Vegetal, em especial professor **Dr. Henrique Guilhon de Castro**, os seus ensinamentos foram bases fundamentais para a conclusão desse trabalho. Professor **Dr. Gil Rodrigues do Santos**, sua sabedoria me fez crescer no entendimento desta pesquisa, o seu acreditar em mim me tornou mais forte e confiante para prosseguir, suas orientações sinalizaram com competência a estrada que caminhei para chegar aqui. Todos aqueles que de alguma forma me ajudaram a estar concluindo esta caminhada que bem sei, é apenas o iniciar de outra, pois o caminho do conhecimento não se fecha no final, mas nos mostra outros a serem percorridos.

**Obrigada!**

“Mas onde se achará a sabedoria?  
E onde está o lugar do entendimento?  
O homem não conhece o valor dela, nem se acha ela na terra dos viventes.  
O abismo diz: Ela não está em mim; e o mar diz: Não está comigo. (...)  
O ouro não se iguala a ela, nem o cristal;  
ela não se trocará por jóia de ouro fino; (...)  
Donde, pois, vem a sabedoria, e onde está o lugar do entendimento? (...)  
Deus lhe entende o caminho, e ele é quem sabe o seu lugar.  
Porque ele perscruta até as extremidades da terra,  
vê tudo o que há debaixo dos céus.  
Quando regulou o peso do vento e fixou a medida das águas; quando  
determinou leis para a chuva e caminho para o relâmpago dos trovões,  
então, viu ele a sabedoria e a manifestou;  
estabeleceu-a e também a esquadrinhou.  
E disse ao homem:  
Eis que o temor do Senhor é a sabedoria,  
e apartar-se do mal é o entendimento.”

**Jó 28:12-28**

## SUMÁRIO

	<b>Pág.</b>
LISTA DE FIGURAS.....	10
LISTA DE TABELAS.....	12
RESUMO.....	16
ABSTRACT.....	17
INTRODUÇÃO GERAL.....	18
REFERÊNCIAS.....	21
<b>CAPÍTULO I: Avaliação de diferentes métodos de análise de fungitoxicidade <i>in vitro</i> de óleos essenciais.....</b>	<b>26</b>
RESUMO.....	27
ABSTRACT.....	28
INTRODUÇÃO.....	28
MATERIAL E MÉTODOS.....	30
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
REFERÊNCIAS.....	35
<b>CAPÍTULO II: Fungitoxicidade de extratos vegetais na inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> de fungos fitopatogênicos.....</b>	<b>38</b>
RESUMO.....	39
ABSTRACT.....	40
INTRODUÇÃO.....	41
MATERIAL E MÉTODOS.....	42
<b>Ensaio I: Fungitoxicidade de extratos vegetais sobre <i>D. bryoniae</i> e <i>P. grisea</i> em diferentes épocas de avaliação.....</b>	<b>42</b>
<b>Ensaio II: Fungitoxicidade de extratos vegetais sobre <i>R. solani</i> e <i>S. rolfsii</i>.....</b>	<b>44</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>44</b>
<b>Ensaio I: Fungitoxicidade de extratos vegetais sobre <i>D. bryoniae</i> e <i>P. grisea</i> em diferentes épocas de avaliação.....</b>	<b>44</b>
<b>Ensaio II: Fungitoxicidade de extratos vegetais sobre <i>R. solani</i> e <i>S. rolfsii</i>.....</b>	<b>51</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>54</b>
<b>CAPÍTULO III: Efeito de óleos essenciais sobre fitopatógenos que causam manchas foliares em culturas da Família Poaceae.....</b>	<b>60</b>

<b>RESUMO.....</b>	<b>61</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>62</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>62</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>64</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>65</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>77</b>
<b>CAPÍTULO IV: Atividade antifúngica dos óleos essenciais de capim-limão, citronela, erva-cidreira e hortelã-pimenta sobre <i>Didymella bryoniae</i>, <i>Rhizoctonia solani</i> e <i>Sclerotium rolfsii</i>.....</b>	<b>84</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>85</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>86</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>86</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>88</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>89</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>96</b>
<b>CAPÍTULO V: Fitotoxicidade de óleos essenciais em plantas de melancia, feijão e arroz.....</b>	<b>103</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>104</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>105</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>105</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>107</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>108</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>114</b>
<b>CAPÍTULO VI: Efeito de óleos essenciais de plantas medicinais sobre a antracnose do sorgo e a helmintosporiose do capim Tanzânia.....</b>	<b>117</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>118</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>119</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>119</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>121</b>
<b>Cultivo das plantas, extração dos óleos, inoculação e avaliação</b>	<b>121</b>
<b>Efeito de óleos essenciais sobre a antracnose do sorgo.....</b>	<b>122</b>
<b>Efeito de óleos essenciais sobre a helmintosporiose do capim Tanzânia.....</b>	<b>123</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>123</b>

<b>Efeito de óleos essenciais sobre a antracnose do sorgo.....</b>	<b>123</b>
<b>Efeito de óleos essenciais sobre a helmintosporiose do capim Tanzânia.....</b>	<b>127</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>130</b>

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>Figura 1.</b> Crescimento micelial (mm) de <i>Rhizoctonia solani</i> submetido a 0,25 µL mL <sup>-1</sup> de óleo essencial de citronela, sob diferentes métodos de teste de fungitoxicidade (T = testemunha; M1 = óleo diluído e incorporado ao meio fundente; M2 = óleo diluído e distribuído na superfície do meio de cultura; M3 = óleo diluído e distribuído em papel filtro; M4 = óleo puro distribuído na superfície do meio de cultura), em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação).....	34
<b>CAPÍTULO II</b>	
<b>Figura 1.</b> Crescimento micelial (mm) de <i>Didymella bryoniae</i> submetido aos tratamentos Testemunha, Tiofanato metílico e Hidrolato de nim (A), Hidrolato de mentrasto, pinhão-manso e pequi (B), Óleo essencial de cagaita, óleo comercial de nim e óleo essencial de eucalipto (C) e óleo essencial de erva-cidreira, citronela e hortelã-pimenta (D).....	49
<b>Figura 2.</b> Crescimento micelial (mm) de <i>Pyricularia grisea</i> submetido aos tratamentos Testemunha, Tiofanato metílico, hidrolato de Nim e óleo comercial de nim (A) e Hidrolato de mentrasto, pinhão-manso, pequi e óleo essencial de cagaita (B).....	50
<b>Figura 3.</b> Diâmetro médio micelial (mm) de <i>Rhizoctonia solani</i> (A) e <i>Sclerotium rolfsii</i> (B) submetidos a diferentes extratos vegetais após quatro dias de incubação.....	52
<b>CAPÍTULO III</b>	
<b>Figura 1.</b> Crescimento micelial (mm) de <i>Colletotrichum graminicola</i> submetido a diferentes concentrações de óleos essenciais de hortelã-pimenta (A), erva-cidreira (B), citronela (C) e capim-limão (D).....	72

<b>Figura 2.</b> Crescimento micelial (mm) de <i>Helminthosporium</i> sp. submetido a diferentes concentrações de óleos essenciais de hortelã-pimenta (A), erva-cidreira (B), citronela (C) e capim-limão (D).....	74
--	----

<b>Figura 3.</b> Crescimento micelial (mm) de <i>Pyricularia grisea</i> submetido a diferentes concentrações de óleos essenciais de hortelã-pimenta (A), erva-cidreira (B), citronela (C) e capim-limão (D).....	76
--	----

## CAPÍTULO V

<b>Figura 1.</b> Fitotoxicidade do óleo essencial de capim-limão a 4% sobre plantas de melancia, feijão-carioca e arroz. A, B e C: melancia, feijão e arroz, respectivamente, sem fitotoxicidade; D e E: necroses foliares em melancia e feijão-carioca, respectivamente; F: plantas de arroz com clorose, murcha e ressecamento.....	113
---	-----

## LISTA DE TABELAS

	Pág.
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>Tabela 1.</b> Resumo da análise de variância do crescimento micelial de <i>Rhizoctonia solani</i> submetido a 0,25 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de óleo essencial de citronela, sob diferentes métodos de testes de fungitoxicidade <i>in vitro</i> , em cinco épocas de avaliação (E. A.).....	31
<b>Tabela 2.</b> Diâmetro médio micelial (mm) de <i>Rhizoctonia solani</i> submetido a 0,25 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de óleo essencial de citronela, sob diferentes métodos de fungitoxicidade <i>in vitro</i> (T = testemunha; M1 = óleo diluído e incorporado ao meio fundente; M2 = óleo diluído e distribuído na superfície do meio de cultura; M3 = óleo diluído e distribuído em papel filtro; M4 = óleo puro distribuído na superfície do meio de cultura), em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação).....	32
<b>CAPÍTULO II</b>	
<b>Tabela 1.</b> Resumo da análise de variância do crescimento micelial de <i>Didymella bryoniae</i> e <i>Pyricularia grisea</i> submetidos a diferentes extratos vegetais em diferentes épocas de avaliação.....	45
<b>Tabela 2.</b> Diâmetro médio micelial (mm) de <i>Didymella bryoniae</i> e <i>Pyricularia grisea</i> submetidos a diferentes extratos vegetais em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação).....	46
<b>Tabela 3.</b> Resumo da análise de variância do crescimento micelial de <i>Rhizoctonia solani</i> e <i>Sclerotium rolfsii</i> submetidos a diferentes extratos vegetais em diferentes épocas de avaliação.....	51

### CAPÍTULO III

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância do crescimento micelial dos fungos *Colletotrichum graminicola*, *Helminthosporium* sp. e *Pyricularia grisea*, submetidos a diferentes concentrações (Conc.) dos óleos essenciais de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), citronela (*Cymbopogon nardus*), erva-cidreira (*Lippia alba*) e hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) em cinco épocas de avaliação (E. A.)..... 65

**Tabela 2.** Diâmetro médio micelial (mm) de *Colletotrichum graminicola* sob cinco concentrações ( $C_1= 0,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_2= 0,50 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_3= 0,75 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_4= 1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  e  $C_5= 1,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) dos óleos essenciais de capim-limão, citronela, erva-cidreira e hortelã-pimenta, em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação)..... 67

**Tabela 3.** Diâmetro médio micelial (mm) de *Helminthosporium* sp sob cinco concentrações ( $C_1= 0,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_2= 0,50 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_3= 0,75 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_4= 1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  e  $C_5= 1,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) dos óleos essenciais de capim-limão, citronela, erva-cidreira e hortelã-pimenta, em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação)..... 68

**Tabela 4.** Diâmetro médio micelial (mm) de *Pyricularia grisea* sob cinco concentrações ( $C_1= 0,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_2= 0,50 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_3= 0,75 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_4= 1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  e  $C_5= 1,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) dos óleos essenciais de capim-limão, citronela, erva-cidreira e hortelã-pimenta, em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação)..... 70

### CAPÍTULO IV

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância do crescimento micelial dos fungos *Didymella bryoniae*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii* submetidos a diferentes concentrações (Conc.) dos óleos essenciais de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), citronela (*Cymbopogon nardus*), erva-cidreira (*Lippia alba*) e hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) em diferentes épocas de avaliações (E.A.)..... 89

<b>Tabela 2.</b> Diâmetro médio micelial (mm) de <i>Didymella bryoniae</i> sob cinco concentrações (Conc.) ( $C_1= 0,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ; $C_2= 0,50 \mu\text{L mL}^{-1}$ ; $C_3= 0,75 \mu\text{L mL}^{-1}$ ; $C_4= 1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ e $C_5= 1,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) dos óleos essenciais de capim-limão, citronela, erva-cidreira e hortelã-pimenta, em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação).....	91
--	----

<b>Tabela 3.</b> Diâmetro médio micelial (mm) de <i>Rhizoctonia solani</i> sob cinco concentrações (Conc.) ( $C_1= 0,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ; $C_2= 0,50 \mu\text{L mL}^{-1}$ ; $C_3= 0,75 \mu\text{L mL}^{-1}$ ; $C_4= 1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ e $C_5= 1,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) dos óleos essenciais de capim-limão, citronela, erva-cidreira e hortelã-pimenta, em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação).....	93
--	----

<b>Tabela 4.</b> Diâmetro médio micelial (mm) de <i>Sclerotium rolfsii</i> sob cinco concentrações (Conc.) ( $C_1= 0,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ; $C_2= 0,50 \mu\text{L mL}^{-1}$ ; $C_3= 0,75 \mu\text{L mL}^{-1}$ ; $C_4= 1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ e $C_5= 1,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) dos óleos essenciais de capim-limão, citronela, erva-cidreira e hortelã-pimenta, em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação).....	95
--	----

## CAPÍTULO V

<b>Tabela 1.</b> Resumo da análise de variância da fitotoxicidade (%) dos óleos essenciais (OE) de citronela ( <i>Cymbopogon nardus</i> ), capim-limão ( <i>C. citratus</i> ), erva-cidreira ( <i>Lippia alba</i> ) e hortelã-pimenta ( <i>Mentha piperita</i> ) sobre plantas de melancia ( <i>Citrullus lanatus</i> ), feijão ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) e arroz ( <i>Oryza sativa</i> ).....	109
--	-----

<b>Tabela 2.</b> Fitotoxicidade (%) de diferentes concentrações dos óleos essenciais de citronela, capim-limão, erva-cidreira e hortelã-pimenta sobre plantas de melancia.....	109
--	-----

<b>Tabela 3.</b> Fitotoxicidade (%) de diferentes concentrações dos óleos essenciais de citronela, capim-limão, erva-cidreira e hortelã-pimenta sobre plantas de feijão-carioca..	111
---	-----

<b>Tabela 4.</b> Fitotoxicidade (%) de diferentes concentrações dos óleos essenciais de citronela, capim-limão, erva-cidreira e hortelã-pimenta sobre plantas de arroz.....	111
---	-----

## CAPÍTULO VI

<b>Tabela 1.</b> Resumo da análise de variância da severidade da antracnose do sorgo sob o efeito preventivo e curativo dos óleos essenciais de capim-limão ( <i>Cymbopogon citratus</i> ), citronela ( <i>C. nardus</i> ), erva-cidreira ( <i>Lippia alba</i> ) e hortelã-pimenta ( <i>Mentha piperita</i> ) e do óleo comercial de nim ( <i>Azadirachta indica</i> ).....	124
<b>Tabela 2.</b> Severidade da antracnose sob o efeito preventivo de óleos essenciais aplicados em quatro doses em plantas de sorgo inoculadas com o fungo <i>Colletotrichum graminicola</i> .....	125
<b>Tabela 3.</b> Severidade da antracnose sob o efeito curativo de óleos essenciais aplicados em duas doses em plantas de sorgo inoculadas com o fungo <i>Colletotrichum graminicola</i> .....	126
<b>Tabela 4.</b> Resumo da análise de variância da severidade da helmintosporiose do capim Tanzânia sob o efeito preventivo e curativo dos óleos essenciais de capim-limão ( <i>Cymbopogon citratus</i> ), citronela ( <i>C. nardus</i> ), erva-cidreira ( <i>Lippia alba</i> ) e hortelã-pimenta ( <i>Mentha piperita</i> ) e do óleo comercial de nim ( <i>Azadirachta indica</i> ).....	127
<b>Tabela 5.</b> Severidade da helmintosporiose sob o efeito preventivo de óleos essenciais (OE) aplicados em quatro doses em plantas de capim Tanzânia inoculadas com o fungo <i>Helminthosporium</i> sp.....	128
<b>Tabela 6.</b> Severidade da helmintosporiose sob o efeito curativo de óleos essenciais (OE) aplicados em quatro doses em plantas de capim Tanzânia inoculadas com o fungo <i>Helminthosporium</i> sp.....	129

## RESUMO

Atualmente, além do crescimento populacional aumenta-se a demanda por alimentos mais saudáveis. Doenças fúngicas é um fator limitante para a produção devido às perdas na produtividade e na qualidade de produtos agrícolas. Fungos fitopatogênicos como *Colletotrichum graminicola*, *Helminthosporium* sp., *Pyricularia grisea*, *Didymella bryoniae*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii* são importantes por causarem grandes perdas e prejuízos aos agricultores. Para o controle da maioria das doenças é utilizado o tratamento convencional com agrotóxicos. Porém, a crescente exigência por produtos vegetais livres de contaminação por resíduos químicos tem incentivado a busca por métodos alternativos de controle. Estudos têm revelado que extratos e óleos essenciais de plantas apresentam potencial para o controle alternativo de doenças. Dessa forma, de um modo geral, o presente trabalho teve como objetivo selecionar e avaliar a ação de extratos e óleos essenciais sobre fungos fitopatogênicos em concentrações não tóxicas às plantas. No Capítulo I objetivou-se selecionar um método de avaliação de fungitoxicidade *in vitro* de óleos essenciais e verificou-se que dos métodos avaliados o uso do óleo essencial puro distribuído na superfície do meio de cultura foi mais eficiente na redução do crescimento de *R. solani*. No Capítulo II, no qual o objetivo foi selecionar extratos de plantas com potencial antifúngico, os óleos essenciais de *Mentha piperita*, *Lippia alba*, *Cymbopogon nardus* e *C. citratus* inibiram totalmente o crescimento dos fungos *P. grisea*, *R. solani* e *S. rolfsii*. No Capítulo III objetivou-se avaliar o efeito de óleos essenciais sobre fungos que causam manchas foliares em plantas da família Poaceae e, pode-se verificar que os óleos essenciais de *C. nardus* e *C. citratus* foram os mais eficientes na redução do crescimento micelial dos fitopatógenos avaliados. No Capítulo IV avaliou-se o efeito de óleos essenciais sobre os fungos *D. bryoniae*, *R. solani* e *S. rolfsii*, e todas as concentrações dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. nardus* inibiram o crescimento de *S. rolfsii*. No Capítulo V objetivou-se avaliar a fitotoxicidade de óleos essenciais sobre as culturas da melancia, feijão e arroz e verificou-se que as concentrações  $\geq 2\%$  dos óleos essenciais foram fitotóxicas às culturas avaliadas. No Capítulo VI avaliou-se o efeito preventivo e curativo de óleos essenciais sobre a antracnose do sorgo e helmintosporiose do capim Tanzânia, e verificou-se redução na severidade das doenças.

**Palavras-chave:** Plantas medicinais, Extratos vegetais, Fitopatógenos, Fungitoxicidade, Crescimento micelial, Fitotoxicidade, Efeito preventivo e curativo e Controle alternativo.

## ABSTRACT

In addition to population growth, the demand for healthier foods increases nowadays. Fungal diseases consists on the limiting factor for food production due to losses in productivity and quality of agricultural products. Phytopathogenic fungi, like *Colletotrichum graminicola*, *Helminthosporium* sp., *Pyricularia grisea*, *Didymella bryoniae*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*, are important since they cause great damages and losses to farmers. To control most of the diseases, it is used the conventional treatment with pesticides. However, the increasing demand for plant products free of chemical residue contamination has encouraged the researching for alternative methods of control. Studies have revealed that extracts and essential oils of plants have potential for alternative control of diseases. Thus, in general, this study aimed to select and evaluate the effect of extracts and essential oils on phytopathogenic fungi at concentrations not toxic to plants. In Chapter I, the purpose was to select a method for evaluating *in vitro* fungitoxicity of essential oils and it was found that, among the evaluated methods, the use of pure essential oil distributed on the surface of the culture medium was most effective in reducing the growth of *R. solani*. In Chapter II, in which the goal was to select plant extracts with antifungal potential, the *Mentha piperita*, *Lippia alba*, *Cymbopogon nardus* and *C. citratus* essential oils completely inhibited the growth of the *P. grisea*, *R. solani* and *S. rolfsii* fungi. In Chapter III, the purpose was to evaluate the effect of essential oils on fungi that cause leaf spots on plants of the Poaceae family and it was verified that the *C. nardus* and *C. citratus* essential oils were the most effective in reducing mycelial growth among the pathogens evaluated. In Chapter IV, we evaluated the effect of essential oils on the *D. bryoniae*, *R. solani* and *S. rolfsii* fungi, and all concentrations of the *C. citratus* and *C. nardus* essential oils inhibited the growth of *S. rolfsii*. In Chapter V, I aimed to evaluate the phytotoxicity of essential oils on the watermelon, beans and rice cultures and it was verified that concentrations  $\geq 2\%$  of essential oils were phytotoxic to the crops evaluated. In Chapter VI, we evaluated the preventive and curative effect of essential oils on sorghum anthracnose and blotch grass Tanzânia, verifying a reduction in disease severity.

**Keywords:** Medicinal plants, Vegetable extracts, Phytopathogens, Fungitoxicity, Mycelial growth, Phytotoxicity, Preventive and curative effect and Alternative control.

## INTRODUÇÃO GERAL

O crescimento populacional habitacional, além de diminuir as áreas apropriadas ao cultivo agrícola, aumenta a demanda por alimentos. As previsões de crescimento populacional revelam que no ano de 2050 a população mundial chegue aos nove bilhões de habitantes (Carrer et al., 2010). Assim, produzir alimento que supra as necessidades desse quantitativo é um desafio.

Diante de todos os fatores que reduzem a produção de alimentos, as doenças fúngicas são de grande impacto na agricultura. O crestamento gomoso do caule, presente em todas as regiões produtoras de curcubitáceas do país, é uma doença importante da cultura da melancia. Causada pelo fungo *Didymella bryoniae*, a doença pode ocasionar perdas de até 60% na produção (Santos et al., 2011). *Rhizoctonia solani* é um fungo de solo que ocorre em diversos tipos de plantas em todo o mundo. Ele é responsável por até 50% de perdas na cultura de feijão-caupi em alguns estados da Região Norte (Sartorato et al., 2006). Uma doença bem distribuída em regiões de clima tropical e subtropical é a podridão do colo, causada pelo fungo *Sclerotium rolfsii*. Esse fitopatógeno apresenta extensa gama de hospedeiros, cerca de 500 espécies botânicas (Serra & Silva, 2005; Mafia et al., 2007).

Manchas foliares, causadas por fungos fitopatogênicos, podem reduzir significativamente a produção de plantas da família Poaceae. A brusone é uma das doenças mais destrutivas do arroz, causada pelo fungo *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. [teleomorfo *Magnaporthe grisea* (T.T. Hebert) M.E. Barr.], ela tem ocorrência generalizada em todas as regiões rizícolas do mundo (Silva et al., 2009). Costa et al. (2003) destacam dentre os principais patógenos causadores de manchas foliares no sorgo o fungo *Colletotrichum graminicola*. Causador da antracnose, esse fitopatógeno encontra-se disseminado pelas principais regiões produtoras de sorgo no Brasil. Manchas foliares ocasionadas pelo fungo *Heminthosporium* sp., podem afetar consideravelmente o desenvolvimento de plantas forrageiras para o gado (Anjos et al., 2004; Correia et al., 2011).

Atualmente, o controle da maioria das doenças de plantas é realizado com o tratamento convencional com agrotóxicos. O uso destes produtos, a fim de combater pragas, doenças e plantas daninhas, traz efeitos imediatos, tais como a redução das perdas na produtividade e o aumento da oferta de alimentos (Hussar et al., 2004; Cooper & Dobson, 2007). Apesar da significativa contribuição desses produtos para a produção agrícola, o uso contínuo e indiscriminado de agrotóxicos causa problemas ambientais como o surgimento de patógenos resistentes e a interrupção do controle biológico natural, ocasionando surtos de

doenças e favorecendo o aparecimento de pragas secundárias (Diniz et al., 2008; Lee et al., 2008; Soyly et al., 2010). De acordo com Fernandes Neto & Sarcinelli (2009) a maioria dos contaminantes químicos presentes em águas subterrâneas e superficiais está relacionada às fontes agrícolas, e os agrotóxicos assumem um lugar de destaque, devido à intensidade de seu consumo no Brasil.

A crescente preocupação da população em consumir alimentos saudáveis e a preservação do meio ambiente, tem tornado o uso de agentes químicos uma prática questionável. A produção de alimentos com uma mínima degradação dos recursos naturais é uma exigência da sociedade, e nesse contexto destacam-se os alimentos portadores de selos que certificam a não utilização de agrotóxicos no processo produtivo (Silva et al., 2010).

Assim, sistemas de cultivo mais sustentáveis e menos dependentes do uso de agrotóxico têm sido desenvolvidos. Um fator indispensável para a agricultura sustentável é o controle alternativo de doenças de plantas.

O controle alternativo de fungos fitopatogênicos tem sido discutido amplamente no contexto atual. Muitos produtos naturais, entre os quais os extratos e os óleos essenciais de plantas medicinais, condimentares e aromáticas, apresentam potencial para o manejo de doenças de plantas. As substâncias bioativas presentes nessas plantas são os metabólitos secundários (Silva et al., 2010). A biossíntese desses metabólitos é realizada por rotas metabólicas específicas do organismo. A relação dessas rotas com a síntese dos metabólitos primários é estreita, uma vez que esta síntese fornece moléculas precursoras para as principais rotas de produção dos compostos secundários (Castro et al., 2004a).

De acordo com Bakkali et al. (2008), os óleos essenciais são compostos complexos, naturais, voláteis, caracterizados por um forte odor. Podem ser sintetizados por todos os órgãos das plantas: flores, folhas, caules, galhos, sementes, frutas, raízes, madeira e cascas. Na natureza, eles desempenham um papel importante na proteção das plantas como antibacterianos, antivirais, antifúngicos e inseticidas. Esses óleos podem ser formados por cem ou mais compostos orgânicos, sendo os monoterpenos e sesquiterpenos os compostos encontrados com maior frequência (Castro et al., 2004b; Castro et al., 2010).

A atividade biológica dos óleos essenciais e de seus constituintes pode atuar como agentes fungistáticos e/ou fungicida, dependendo das concentrações utilizadas. O mesmo óleo pode ser ativo contra um amplo espectro de espécies de microrganismos, porém as concentrações mínimas inibitórias (CMI) podem variar (Antunes & Cavacob, 2010). Tyagi e Malik (2011) avaliando o potencial antimicrobiano do óleo de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) observaram variações de CMI do óleo sobre diferentes fungos.

Carnelossi et al. (2009) avaliando o efeito *in vitro* de óleos essenciais de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), eucalipto (*E. citriodora*) e menta (*Mentha arvensis*) sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, observaram total inibição do crescimento micelial do patógeno. Combrinck et al. (2011) observaram inibição do crescimento dos fitopatógenos *C. gloeosporioides*, *P. digitatum* e *Alternaria citrii* pelo óleo essencial de capim-limão. O crescimento micelial dos fitopatógenos *A. flavus*, *Aspergillus oryzae*, *A. niger* e *Alternaria alternata*, que causam a deterioração fúngica do tomate cereja, foi consideravelmente reduzido quando aplicados diferentes concentrações do óleo essencial de endro (*Anethum graveolens* L.) (Tian et al., 2011). Sharma e Tripathi (2008), usando óleo de laranja (*Citrus sinensis*) sobre *A. niger*, observaram que o óleo reduziu tanto o desenvolvimento do fungo como a germinação de esporos.

As propriedades antimicrobianas dos óleos essenciais devem-se a sua característica lipofítica (Bakkali et al., 2008). A hidrofobicidade do óleo essencial permite uma interação entre o óleo e os lipídeos da membrana celular, interferindo na sua permeabilidade e causando alterações em sua estrutura (Costa et al., 2011). Os autores Rasooli et al. (2006), por meio de microscopia eletrônica de varredura, observaram que a parede, membrana e organelas celulares do fungo *A. niger* mostravam graves danos quando exposto a concentrações mínimas inibitórias dos óleos essenciais de *Thymus eriocalyx* e *T. x-porlock*. O micélio do patógeno apresentou alterações morfológicas nas hifas, interrupção e destruição das membranas plasmáticas e mitocondriais. Costa et al. (2011) avaliando o efeito do óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) sobre o fungo *R. solani*, observaram diferentes alterações morfológicas nas hifas.

É importante ressaltar que apesar do grande potencial do uso de óleos essenciais na agricultura sustentável, esses compostos vegetais podem prejudicar o desenvolvimento e a germinação de plantas. Grosso et al. (2010) destacam que os mono e sesquiterpenos podem afetar os processos fisiológicos de plantas. Inibição da abertura estomática de *Vicia faba* por monoterpenos voláteis de folhas de *Prinsepia utilis* foi observada pelos autores Rai et al. (2003). Dequech et al. (2008) observaram necrose e descoloração de folhas de feijão-de-vagem quando tratadas com óleo comercial de nim.

Considerando a alta demanda de alimentos mais saudáveis, o impacto que as doenças fúngicas podem ocasionar na produção agrícola e também levando-se em consideração o potencial dos extratos e óleos essenciais no controle de doenças fúngicas, o presente trabalho

teve como objetivo selecionar e avaliar a ação de extratos e óleos essenciais sobre fungos fitopatogênicos em concentrações não tóxicas às plantas.

Para cumprir esse objetivo desenvolveram-se experimentos que serão descritos em seis capítulos. No Capítulo I selecionou-se um método de teste de fungitoxicidade *in vitro*, uma vez que diferentes métodos são descritos na literatura. O método selecionado para todas as avaliações *in vitro*, realizados nos experimentos seguintes, foi o método de contato em que o óleo essencial, não diluído, foi distribuído na superfície do meio de cultura. No Capítulo II avaliou-se a fungitoxicidade de diferentes extratos vegetais (hidrolatos e óleos essenciais) sobre os fungos *Didymella bryoniae*, *Pyricularia grisea*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. Dos onze extratos avaliados, foram selecionados apenas quatro (óleos essenciais de capim-limão, citronela, erva-cidreira e hortelã-pimenta) que foram utilizados nos experimentos posteriores.

No Capítulo III foram avaliadas a fungitoxicidade de diferentes concentrações dos óleos essenciais de capim-limão, citronela, erva-cidreira e hortelã-pimenta sobre fungos causadores de manchas foliares em plantas da família Poaceae. Destacou-se como mais eficientes os óleos de capim-limão e citronela. No Capítulo IV as mesmas concentrações e os mesmos óleos essenciais avaliados no Capítulo III foram testados sobre os fitopatógenos *D. bryoniae*, *R. solani* e *S. rolfsii*, e os óleos essenciais de capim-limão e citronela foram os que se destacaram no controle desses fungos.

Devido à fitotoxicidade que óleos essenciais podem causar, no Capítulo V avaliou-se a fitotoxicidade dos óleos essenciais de capim-limão, citronela, erva-cidreira e hortelã-pimenta em plantas de melancia, feijão e arroz. Concentrações iguais e superiores a 2% foram fitotóxicas as plantas. No Capítulo VI avaliou-se o efeito *in vivo* desses óleos essenciais, em concentrações não fitotóxicas, sobre a antracnose do sorgo e helmintosporiose do capim Tanzânia. Os óleos essenciais avaliados reduziram significativamente a severidade das doenças.

## REFERÊNCIAS

ANJOS, J. R. N.; CHARCHAR, M. J. A.; TEIXEIRA, R. N.; ANJOS, S. S. N. Ocorrência de *Bipolaris maydis* Causando Mancha Foliar em *Paspalum atratum* cv. Pojuca no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 6, p. 656-658, 2004.

ANTUNES, M. D. C.; CAVACOB, A.; The use of essential oils for postharvest decay control. A review. **Flavour Fragrance Journal**, v. 25, p. 351-366, 2010.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.

CARNELOSSI, P. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; MESQUINI, R. M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 399-406, 2009.

CARRER, H.; BARBOSA, A. L.; RAMIRO, D. A. Biotecnologia na agricultura. **Estudos Avançados**, v. 24, n. 70, p. 149-164, 2010.

CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: Metabólitos secundários**. 2ª Ed. Viçosa, MG: Visconde do Rio Branco, 2004a. 113 p.

CASTRO, H. G.; OLIVEIRA, L. O.; BARBOSA, L. C. A.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R.; NASCIMENTO, E. A. Teor e composição do óleo essencial de cinco acessos de mentrasto. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 55-57, 2004b.

CASTRO, H. G.; PERINI, V. B. M.; SANTOS, G. R.; LEAL, T. C. A. B. Avaliação do teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.) em diferentes épocas de colheita. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 2, p. 308-314, 2010.

COMBRINCK, S.; REGNIER, T.; KAMATOU, G.P.P. *In vitro* activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. **Industrial Crops and Products**, v. 33, p. 344-349, 2011.

COOPER, J.; DOBSON, H. The benefits of pesticides to mankind and the environment. **Crop Protection**, v. 26, p. 1337-1348, 2007.

CORREIA, N. M.; LEITE, M. B.; DANIEL, B. Efeito do consórcio de milho com *Panicum maximum* na comunidade infestante e na cultura da soja em rotação. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 29, n. 3, p. 545-555, 2011.

COSTA, A. R. T.; AMARAL, M. F. Z. J.; MARTINS, P. M.; PAULA, J. A. M.; FIUZA, T. S.; RESVENZOL, L. M. F.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n.2, p.240-245, 2011.

COSTA, R. V.; CASELA, C. R.; ZAMBOLIM, L.; FERREIRA, A. S. A antracnose do sorgo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 345-354, 2003.

DEQUECH, S. T. B.; RIBEIRO, L. P.; SAUSEN, C. D.; EGEWARTH, R.; KRUSE, N. D. Fitotoxicidade causada por inseticidas botânicos em feijão-de-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado em estufa plástica. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v. 15, n.1, p. 71-80, 2008.

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 fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.10, n.4, p.9-11, 2008.

FERNANDES NETO, M. L.; SARCINELLI, P. N. Agrotóxicos em água para consumo humano: uma abordagem de avaliação de risco e contribuição ao processo de atualização da legislação brasileira. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 14, n. 1, p. 69-78, 2009.

GROSSO, C.; COELHO, J. A.; URIETA, J. S.; PALAVRA, A. M. F.; BARROSO, J. G. Herbicidal activity of volatiles from coriander, winter savory, cotton lavender, and thyme isolated by hydrodistillation and supercritical fluid extraction. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 20, p. 11007-11013, 2010.

HUSSAR, G. J.; PARADELA, A. L.; JONAS, T. C.; SERRA, W.; GOMES, J. P. R.; PERES, M. R. Ensaio para a determinação de dosagem tóxica do fungicida tebuconazole (Folicur 200

CE) sobre alevinos e juvenis de tilápia (*Tilapia rendalli*) e de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Engenharia ambiental**, v. 1, n. 1, p. 35-44, 2004.

LEE, Y.; KIM, J.; SHIN, S.; LEE, S.; PARK, I. Antifungal activity of Myrtaceae essential oils and their components against three phytopathogenic fungi. **Flavour Fragrance Journal**, v. 23, p. 23-28, 2008.

MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; REZENDE JÚNIOR, M. F. R. Tombamento de mudas de espécies florestais causado por *Sclerotium rolfsii* Sacc. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 31, n. 4, p. 629-634, 2007.

RAI, V. K.; GUPTA, S. C.; SINGH, B. Volatile monoterpenos from *Prinsepia utilis* L. leaves inhibit stomatal opening in *Vicia faba* L. **Biologia Plantarum**, v. 46, n. 1, p. 121-124, 2003.

RASOOLI, I.; REZAEI, M. B.; ALLAMEH, A. Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus x-porlock*. **Food Control**, v. 17, n. 5, p. 359-364, 2006.

SANTOS, G. R.; LEÃO, E. U.; CASTRO, H. G.; NASCIMENTO, I. R.; SARMENTO, R. A.; SARMENTO-BRUM, R. B. C. Crestamento gomoso do caule da melancia: Etiologia, epidemiologia e medidas de controle. **Journal Biotechnology and Biodiversity**, v. 2, n. 2, p. 52-58, 2011.

SARTORATO, A.; NECHET, K. L.; HALFELD-VIEIRA, B. A. Diversidade Genética de Isolados de *Rhizoctonia solani* coletados em Feijão-caupi no Estado de Roraima. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 3, p. 297-301, 2006.

SERRA, I. M. R. S.; SILVA, G. S. Caracterização biológica e fisiológica de isolados de *Sclerotium rolfsii* obtidos de pimentão no estado do Maranhão. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 1, p. 61-66, 2005.

SHARMA, N.; TRIPATHI, A. Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem. **Microbiological Research**, v. 163, p. 337-344, 2008.

SILVA, C. P.; NOMURA, E.; FREITAS, E. G.; BRUGNARO, C.; URASHIMA, A. S. Eficiência de tratamentos alternativos no controle de *Pyricularia grisea* em sementes de trigo. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 2, p. 127-131, 2009.

SILVA, M. B.; MORANDI, M. A. B.; PAULA JÚNIOR, T. J.; VENZON, M.; FONSECA, M. C. M. Uso de princípios bioativos de plantas no controle de fitopatógenos e pragas. **Informe Agropecuário**, v. 31, n. 255, p. 70-77, 2010.

SOYLU, E. M.; KURT, S.; SOYLU, S. *In vitro* and *in vivo* antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 143, n. 3., p. 183-189, 2010.

TIAN, J.; BAN, X.; ZENG, H.; HUANG, B.; HE, J.; WANG, Y. In vitro and in vivo activity of essential oil from dill (*Anethum graveolens* L.) against fungal spoilage of cherry tomatoes. **Food Control**, v. 22, p. 1992-1999, 2011.

TYAGI, A. K.; MALIK, A. Antimicrobial potential and chemical composition of *Eucalyptus globulus* oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms. **Food Chemistry**, v. 126, p. 228-235, 2011.

# CAPÍTULO I

---

---

## **Avaliação de diferentes métodos de análise de fungitoxicidade *in vitro* de óleos essenciais**

## Avaliação de diferentes métodos de análise de fungitoxicidade *in vitro* de óleos essenciais<sup>1</sup>

Evaluation of different methods of fungitoxicity analysis *in vitro* of essential oils.

### RESUMO

Os problemas ambientais causados por fungicidas sintéticos têm elevado as buscas por métodos alternativos de controle de doenças de plantas. Muitas plantas medicinais, aromáticas e condimentares apresentam propriedades antimicrobianas. O óleo essencial de citronela (*Cymbopogon nardus*) possui propriedades fungicidas. A utilização de óleos essenciais no controle de fitopatógenos tem sido destaque em diferentes estudos, porém não há uma metodologia padrão para avaliar essa fungitoxicidade. *Rhizoctonia solani* é um fungo de ocorrência mundial que causa grandes perdas na agricultura. Objetivou-se avaliar o efeito do óleo essencial de citronela, sobre o fungo *R. solani*, em diferentes métodos de fungitoxicidade *in vitro*. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial com quatro repetições, onde os fatores foram compostos por quatro métodos de avaliação de fungitoxicidade *in vitro* do óleo essencial do capim citronela (óleo essencial diluído em Tween 80 (0,5%) e incorporado ao meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar) ainda fundente; óleo essencial diluído em Tween 80 (0,5%) e distribuído na superfície do BDA; óleo essencial diluído em Tween 80 (0,5%) e distribuído em papel filtro fixado na superfície interna da tampa da placa de Petri; óleo essencial puro e distribuído na superfície do meio de cultura) e testemunha, e por cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação). Na avaliação da inibição do crescimento fúngico, foi utilizada para todos os tratamentos a concentração de 0,25  $\mu\text{L mL}^{-1}$  do óleo de citronela. Dos tratamentos avaliados o uso do óleo puro distribuído na superfície do meio de cultura foi mais eficiente na redução do diâmetro micelial. Neste método, a taxa de crescimento micelial foi de 9,02  $\text{mm dia}^{-1}$ , atingindo na última época de avaliação 79,77 mm.

**Palavras-chave:** Plantas medicinais, Crescimento micelial, *Cymbopogon nardus* e *Rhizoctonia solani*.

---

<sup>1</sup> Capítulo submetido à Revista Bioscience Journal

## ABSTRACT

Environmental problems caused by synthetic fungicides have increased searches for alternative methods of plant diseases control. Many medicinal, aromatic, and seasoning plants have antimicrobial properties. The citronella (*Cymbopogon nardus*) essential oil has fungicidal properties. The use of essential oils to control plant pathogens has been featured in different studies, however there is no standard methodology to evaluate the fungitoxicity. *Rhizoctonia solani* is a worldwide occurrence fungus that causes great losses in agriculture. The purpose was to evaluate the effect of the citronella essential oil, on the *Rhizoctonia solani* fungus, in different methods of *in vitro* fungitoxicity. We used a fully randomized design in factorial scheme with four replications, where the factors were composed of four methods for assessing the *in vitro* fungitoxicity of the citronella grass essential oil (essential oil diluted in Tween 80 (0.5%) and embedded in the culture medium PDA (potato, dextrose and agar) still melting, essential oil diluted in Tween 80 (0.5%) and distributed on the surface of the PDA; essential oil diluted in Tween 80 (0.5%) and distributed on paper filter attached to the inner surface of the lid of the dish Petri; pure essential oil and distributed on the surface of the culture medium; and control) and of five evaluation periods (2, 4, 6, 8, and 10 days of incubation). To evaluate the inhibition of fungal growth, it was used for all treatments the concentration of  $0.25\mu\text{L mL}^{-1}$  of citronella oil. Among the treatments evaluated, the use of pure oil distributed on the surface of the culture medium was more effective in reducing the mycelial diameter. In this method, the rate of mycelial growth was  $9,02\text{ mm day}^{-1}$ , reaching in last evaluation  $79,77\text{ mm}$ .

**Keywords:** Medicinal plants, Mycelial growth, *Cymbopogon nardus* and *Rhizoctonia solani*.

## INTRODUÇÃO

Os problemas ambientais causados pelos fungicidas sintéticos usados na agricultura têm elevado as buscas por métodos alternativos, seguros, viáveis e eficientes no controle de fungos fitopatogênicos (Silva et al., 2010).

Muitas plantas medicinais, aromáticas e condimentares apresentam propriedades antimicrobianas. Apresentam maior biodegradabilidade, sendo, portanto, menos prejudiciais ao meio ambiente (Ootani et al., 2011).

O capim citronela (*Cymbopogon nardus*) é uma planta muito utilizada na Indonésia como chá calmante e digestivo. Seu óleo essencial apresenta atividade repelente e ação bactericida e fungicida. Sua fungitoxicidade deve-se a presença de monoterpenos e sesquiterpenos. A produção desses metabólitos secundários pode variar com as relações ecológicas e genéticas da planta (Ootani et al., 2011; Castro et al., 2010). Oliveira et al. (2011) avaliando a composição química do óleo essencial de citronela, observaram como compostos majoritários citronelal, geraniol e citronelol, destacando entre eles o citronelal. Castro et al. (2010) apresentaram como compostos majoritários, estudando a mesma espécie de planta, o citronelol, geraniol e elemol, sendo o geraniol destaque entre os outros compostos. Os monoterpenos citronelal e geraniol atuam na defesa da planta, e podem inibir o crescimento de fungos (Castro et al., 2007).

*Rhizoctonia solani* é um importante fitopatógeno habitante de solo que causa doenças em uma grande variedade de culturas em todo o mundo (Tsai et al., 2012). Dentre os sintomas provocados por este fitopatógeno, que varia um pouco entre as culturas, o tombamento é o mais comum (Aboellil & Mohammed, 2011). Devido a complexidade do padrão de comportamento, como também dos constituintes bioquímicos dos fungos de solo, não há fungicidas eficazes contra *R. solani* em leguminosas (Anitha & Arun Das, 2011). Assim, é importante buscar métodos alternativos para o manejo de doenças ocasionadas por esse fitopatógeno.

Vários autores demonstraram a eficiência de óleos essenciais de plantas na redução do crescimento micelial de fungos fitopatogênicos. Porém, observa-se que não há uma metodologia padrão, o que dificulta, muitas vezes, a comparação e discussão de resultados.

Santos et al. (2010a) observaram a ação do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius*, diluído em Tween 80 e distribuído na superfície do meio de cultura, sobre os fungos *Alternaria* spp., *Botrytis* spp., *Colletotrichum* spp. e *Fusarium* spp. e observaram redução significativa do diâmetro micelial dos fitopatógenos. Utilizando a técnica do papel de filtro fixada na superfície interna da tampa da placa de Petri, Lee et al. (2008) verificaram a fungitoxicidade dos compostos voláteis de óleos essenciais de diferentes espécies de plantas da família Myrtaceae, sobre os fungos *Phytophthora cactorum* e *Cryphonectria parasitica* e *Fusarium circinatum*. Ao utilizar o extrato de alho (*Allium sativum*) adicionado ao meio BDA

ainda fundente, Santos et al. (2010b) observaram o efeito do extrato no crescimento micelial do fungo *Aspergillus niger* e verificaram uma redução significativa no seu desenvolvimento.

Assim, este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do óleo essencial do capim citronela, sobre o fungo *R. solani*, em diferentes métodos de avaliação de fungitoxicidade *in vitro*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi realizado no Laboratório de Fitopatologia, na Universidade Federal do Tocantins - UFT, Campus de Gurupi, TO.

Para o ensaio foi utilizado o fitopatógeno *Rhizoctonia solani*. O fungo foi repicado de cultura armazenada na Coleção Micológica do Laboratório de Fitopatologia da UFT, Campus de Gurupi. Para o isolamento foram utilizadas placas de Petri de 90 x 15 mm com meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar), preparado com 250 g de batata, 20 g de dextrose e 20 g de ágar por litro de água. Foi acrescido 500 mg L<sup>-1</sup> de antibiótico Ampicilina para evitar contaminação por bactérias. Foram vertidos 20 mL de meio de cultura por placa de Petri.

Para obtenção do óleo essencial, folhas de citronela (*Cymbopogon nardus*) foram desidratadas à temperatura ambiente. A extração foi realizada pelo método de hidrodestilação (Castro et al., 2010), utilizando o aparelho Clevenger. O sobrenadante foi coletado e armazenado em frasco estéril. Foi testada uma única concentração do óleo essencial (0,25 µL mL<sup>-1</sup>).

Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial com quatro repetições, sendo os tratamentos constituídos por quatro métodos de avaliação de fungitoxicidade *in vitro* em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação).

Os tratamentos foram: Testemunha (T) – não foi utilizado óleo essencial; Método 1 (M1) – o óleo essencial foi diluído em Tween 80 (0,5%) e foi incorporado ao meio de cultura BDA ainda fundente; Método 2 (M2) – o óleo diluído em Tween 80 (0,5%) foi distribuído na superfície do meio de cultura com uma alça tipo Drigalsky; Método 3 (M3) – o óleo foi diluído em Tween 80 (0,5%) e distribuído em papel filtro qualitativo de 30 mm de diâmetro fixado na superfície interna da tampa da placa de Petri; Método 4 (M4) o óleo puro foi distribuído na superfície do meio de cultura com uma alça tipo Drigalsky.

Após a aplicação dos tratamentos, foi inoculado no centro da placa um disco de 6 mm de diâmetro de BDA contendo o material fúngico. As placas foram vedadas com fita PVC, identificadas e incubadas à temperatura de 25°C. As avaliações foram realizadas por medições do diâmetro micelial (média de duas medidas diametralmente opostas), utilizando-se paquímetro digital, a cada 48 horas, a partir da instalação do experimento, perdurando até a quinta avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação).

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e regressão. No fator qualitativo, as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, e no fator quantitativo foram ajustadas equações de regressão com base no teste “t” dos coeficientes a 5% de probabilidade e no coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>). As análises foram realizadas por meio do sistema computacional SAEG (Ribeiro Júnior & Melo, 2008).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância (Tabela 1) revelou que as variações em função das fontes tratamentos, épocas de avaliações e a interação entre eles foram significativas a 1% de probabilidade.

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância do crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* submetido a 0,25 µL mL<sup>-1</sup> de óleo essencial de citronela, sob diferentes métodos de testes de fungitoxicidade, em cinco épocas de avaliação (E. A.).

Fontes de variação	G. L. <sup>1</sup>	Quadrado médio
Tratamentos	4	4985,76**
Épocas de Avaliação	4	11588,62**
Trat. x E. A.	16	544,81**
Resíduo	75	2,29
C. V. <sup>2</sup>	2,81	

\*\*Significativo a 1% de probabilidade; <sup>1</sup>G.L.: Grau de liberdade; <sup>2</sup>C.V.: Coeficiente de variação.

De acordo com os resultados (Tabela 2), em todos os tratamentos foram obtidos valores de crescimento micelial menores que a testemunha até a quarta avaliação (8 dias de

incubação). De todos os métodos avaliados a utilização do óleo puro (M4) foi mais eficiente na redução do diâmetro micelial. No método em que o óleo diluído foi incorporado ao meio BDA ainda fundente (M1) o fungo apresentou um diâmetro micelial maior que nos outros métodos avaliados (Tabela 2). Venturo et al. (2010) avaliando a fungitoxicidade de extratos vegetais submetidos a diferentes formas de esterilização destacaram que a temperatura pode limitar a bioatividade do extrato vegetal, uma vez que o princípio ativo da planta pode ser termosensível.

**Tabela 2.** Diâmetro médio micelial (mm) de *Rhizoctonia solani* submetido a 0,25  $\mu\text{L mL}^{-1}$  de óleo essencial de citronela, sob diferentes métodos de fungitoxicidade *in vitro* (T = testemunha; M1 = óleo diluído e incorporado ao meio fundente; M2 = óleo diluído e distribuído na superfície do meio de cultura; M3 = óleo diluído e distribuído em papel filtro; M4 = óleo puro distribuído na superfície do meio de cultura), em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação).

Métodos	Épocas de avaliação (dias de incubação)				
	2	4	6	8	10
T	72,93a	84,00a	84,00a	84,00a	84,00a
M1	12,81b	31,04b	50,07b	71,30b	84,00a
M2	10,31bc	27,58c	45,28c	65,34c	84,00a
M3	9,19c	27,16cd	47,30bc	70,37b	84,00a
M4	7,90c	24,51d	44,50c	62,28d	79,21b

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Soylu et al. (2010) avaliaram o efeito volátil e de contato dos óleos de orégano (*Origanum syriacum* var. *bevanii*), lavanda (*Lavandula stoechas* var. *stoechas*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*), sendo que o método de contato utilizado foi a incorporação do óleo ao meio de cultura BDA e o de efeito volátil foi a distribuição do óleo em papel filtro fixado na superfície interna da tampa da placa de Petri. Os autores observaram que o efeito volátil foi mais eficiente na inibição do crescimento micelial do patógeno *Botrytis cinerea* para todos os óleos avaliados. Nascimento et al. (2008) observaram o efeito do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum*), puro e diluído em Tween 80, distribuídos na superfície do meio de cultura, sobre o crescimento de *Alternaria alternata*. Os autores verificaram que a

concentração de 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  do óleo puro e diluído em Tween 80 a 25, 50 e 75% não apresentou diferença significativa na redução do diâmetro micelial do patógeno.

Tyagi e Malik (2011) avaliando a fungitoxicidade do óleo essencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) sobre os fungos que causam deterioração de alimentos, observaram que o efeito volátil do óleo, no método do papel filtro, apresentou uma zona de inibição maior que o óleo no método de difusão em agar.

Alguns trabalhos relatam a fungitoxicidade de extratos e óleos essenciais de plantas sobre o fungo *R. solani*, e independente do método aplicado, os resultados mostram que a utilização desses compostos são promissores para o controle alternativo do patógeno. Benini et al. (2010) utilizaram o método de contato em que o óleo puro de alfavacão (*Ocimum gratissimum*) foi distribuído na superfície do meio de cultura e destacaram inibição total do crescimento de *R. solani*. Triana e González (2009), por meio do método de incorporação do óleo ao meio de cultura ainda fundente, observaram que o óleo de nim (*Azadirachta indica*) apresentou uma porcentagem de inibição de 56% do crescimento micelial do fitopatógeno.

Pela Figura 1 verifica-se as curvas de crescimento ajustadas para o crescimento micelial do fungo *R. solani* quando submetido aos diferentes métodos de análise de fungitoxicidade *in vitro*.

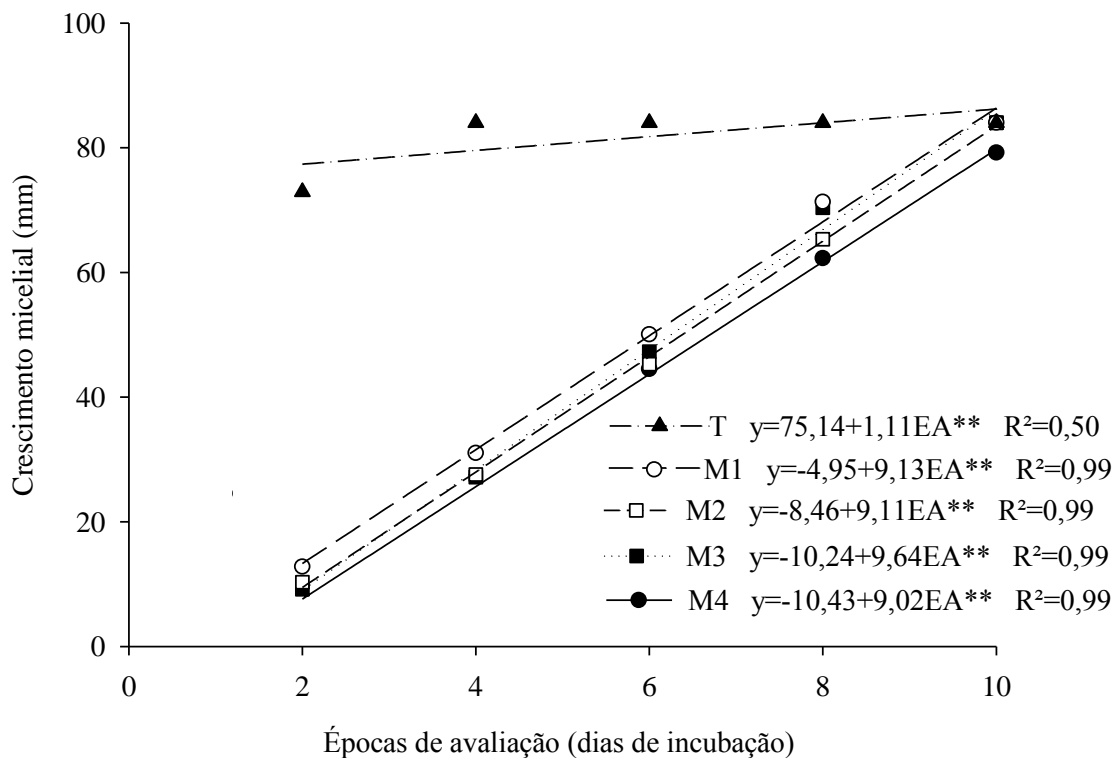
Na testemunha, o fungo *R. solani* apresentou maior desenvolvimento micelial do que os outros tratamentos avaliados, cobrindo toda a superfície do meio de cultura na segunda avaliação. Este fato pode explicar sua menor taxa de crescimento micelial diário (1,11 mm dia<sup>-1</sup>), pois como o patógeno colonizou toda a superfície da placa a partir do quarto dia da incubação não houve mais espaço físico para mais crescimento (Figura 1).

Utilizando-se o óleo essencial puro (M4) foi obtido, na última época de avaliação, valor significativamente menor que nos outros tratamentos. Neste, observou-se a menor taxa de crescimento micelial, 9,02 mm dia<sup>-1</sup>, atingindo na última época de avaliação 79,77 mm.

A variação do desenvolvimento do fungo quando submetido aos diferentes métodos de testes de fungitoxicidade *in vitro* revela que é possível fazer comparações entre pesquisas em que o método utilizado foi diferente. Cabe ao pesquisador selecionar o método que seja mais viável a sua realidade de trabalho ou que facilite o desenvolvimento do seu experimento.

É importante ressaltar que para estudos que objetivam testes *in vivo*, a metodologia utilizada *in vitro* deve se aproximar de sua aplicabilidade mais viável na cultura. Carnellosi et al. (2009), por exemplo, avaliaram a ação do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão utilizando

método de contato tanto *in vitro*, com a distribuição do óleo essencial na superfície do meio de cultura, quanto *in vivo*, em que o óleo foi aplicado no fruto.



**Figura 1.** Crescimento micelial (mm) de *Rhizoctonia solani* submetido a  $0,25 \mu\text{L mL}^{-1}$  de óleo essencial de citronela, sob diferentes métodos de teste de fungitoxicidade (T = testemunha; M1 = óleo diluído e incorporado ao meio fundente; M2 = óleo diluído e distribuído na superfície do meio de cultura; M3 = óleo diluído e distribuído em papel filtro; M4 = óleo puro distribuído na superfície do meio de cultura), em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação). \*\*Significativo a 1% de probabilidade pelo teste “t”.

A metodologia utilizada em um experimento deve estar de acordo com os objetivos da pesquisa. A comparação de resultados, independente do método utilizado, é importante para o desenvolvimento do controle alternativo de doenças de plantas por óleos essenciais de plantas medicinais.

Considerando que a eficiência do método utilizado pode variar com o óleo essencial e patógenos avaliados, para selecionar o método a ser utilizado nos experimentos posteriores, considerou-se o resultado obtido neste experimento, em que o óleo essencial puro de citronela distribuído na superfície do meio de cultura foi mais eficiente na inibição do crescimento micelial do fungo *R. solani*, e a aplicabilidade do óleo em plantas no teste *in vivo*. Assim

selecionou-se o método de contato com a distribuição do óleo essencial na superfície do meio de cultura.

## REFERÊNCIAS

ABOELLIL, A. H.; MOHAMMED, N. M. Effect of some chemicals on growth, melanogenesis, pathogenicity and metabolic activities of *Rhizoctonia solani*. **Journal of Yeast and Fungal Research**, v. 2, n. 10, p. 143-152, 2011.

ANITHA, A.; ARUN DAS, M. Activation of rice plant growth against *Rhizoctonia solani* using *Pseudomonas fluorescens*, *Trichoderma* and Salicylic Acid. **Research in Biotechnology**, v. 2, n. 4, p. 07-12, 2011.

BENINI, P. C.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; KLAIS, E. C.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; MESQUINE, R. M.; STANGARLIN, J. R.; TOLENTINO JÚNIOR, J. B. Efeito *in vitro* do óleo essencial e extrato aquoso de *Ocimum gratissimum* colhido nas quatro estações do ano sobre fitopatógenos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 4, p. 677-683, 2010.

CARNELOSSI, P. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; MESQUINI, R. M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 399-406, 2009.

CASTRO, H. G.; BARBOSA, L. C. A.; LEAL, T. C. A. B.; SOUZA, C. M.; NAZARENO, A.C. Crescimento, teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.9, n.4, p.55-61, 2007.

CASTRO, H. G.; PERINI, V. B. M.; SANTOS, G. R.; LEAL, T. C. A. B. Avaliação do teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.) em diferentes épocas de colheita. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 2 p. 308-314, 2010.

LEE, Y.; KIM, J.; SHIN, S.; LEE, S.; PARK, I. I. Antifungal activity of Myrtaceae essential oils and their components against three phytopathogenic fungi. **Flavour Fragrance Journal**, v. 23, n. 1, p. 23-28, 2008.

NASCIMENTO, F. R.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; LIMA, R. K.; SALGADO, A. S. P.; GUIMARÃES, L. G. L. Efeito do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC) e do emulsificante Tween® 80 sobre o crescimento micelial de *Alternaria alternata* (Fungi: Hyphomycetes). **Acta Amazônica**, v. 38, n. 3, p. 503-508, 2008.

OLIVEIRA, M. M. M.; BRUGNERA, D. F.; CARDOSO, M. G.; GUIMARÃES, L. G. L.; PICCOLI, R. H. Rendimento, composição química e atividade antilisterial de óleos essenciais de espécies de *Cymbopogon*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.13, n.1, p. 8-16, 2011.

OOTANI, M. A.; AGUIAR, R. W. S.; MELLO, A. V.; DIDONET, J.; PORTELLA, A. C. F.; NASCIMENTO, I. R. Toxicidade de óleos essenciais de eucalipto e citronela sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 27, n. 4, p. 609-618, 2011.

RIBEIRO JÚNIOR, J. I.; MELO, A. L. P. **Guia Prático para Utilização do SAEG**. Viçosa: UFV, 2008. 288p.

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

SANTOS, M. B.; SANTOS, C. Y.; ALMEIDA, M. A.; SANTOS, C. R. S.; SANT'ANNA, H. L. S.; SANTOS, O. S. N.; SILVA, F.; MARTINS, G. N. Efeito inibitório *in vitro* de extrato vegetal de *Allium sativum* sobre *Aspergillus niger* Tiegh. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 1, p. 13-17, 2010b.

SILVA, M. B.; MORANDI, M. A. B.; PAULA JÚNIOR, T. J.; VENZON, M.; FONSECA, M. C. M. Uso de princípios bioativos de plantas no controle de fitopatógenos e pragas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 31, n. 255, p. 70-77, 2010.

SOYLU, E. M.; KURT, S.; SOYLU, S. *In vitro* and *in vivo* antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 143, n. 3, p. 183-189, 2010.

TRIANA, A. C.; GONZÁLEZ, D. R. Efecto Del OleoNim 50 CE sobre el crecimiento y desarrollo *in vitro* de hongos fitopatógenos del arroz (*Oryza sativa* Lin.). **Fitosanidad**, v. 13, n. 4, p. 271-276, 2009.

TSAI, Y.; LIN, M.; KO, W. A simple method for production of uniform inoculums of *Rhizoctonia solani* with strong pathogenicity. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 1, p. 85-88, 2012.

TYAGI, A. K.; MALIK, A. Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. **Food Control**, v. 22, p. 1707-1714, 2011.

VENTUROSO, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; PONTIM, B. C. A.; CONUS, L. A. Influência de diferentes metodologias de esterilização sobre a atividade antifúngica de extratos aquosos de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 4, p. 499-505, 2010.

## CAPÍTULO II

---

---

### **Fungitoxicidade de extratos vegetais na inibição do crescimento micelial *in vitro* de fungos fitopatogênicos**

## Fungitoxicidade de extratos vegetais na inibição do crescimento micelial *in vitro* de fungos fitopatogênicos

Fungitoxicity of plant extracts in inhibiting the mycelial growth *in vitro* of pathogenic fungi

### RESUMO

O uso de compostos vegetais como alternativa para controle de fitopatógenos tem recebido destaque em pesquisas que visam mitigar o uso de agrotóxicos na agricultura. Fungos como *Didymella bryoniae*, *Pyricularia grisea*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii* são importantes por causarem grandes perdas na produção. Nesse contexto, objetivou-se no Ensaio I avaliar a fungitoxicidade de extratos vegetais na inibição do crescimento de *D. bryoniae* e *P. grisea*, e no Ensaio II avaliar a fungitoxicidade dos mesmos extratos na inibição do crescimento de *R. solani* e *S. rolfsii*. Os ensaios foram realizados no delineamento inteiramente casualizado com 11 tipos de extratos (óleo essencial de citronela (*C. nardus*), óleo essencial de capim-limão (*C. citratus*), óleo essencial de erva-cidreira (*Lippia alba*), óleo essencial de eucalipto (*Eucalyptus* sp.), óleo essencial de hortelã-pimenta (*Mentha piperita*), óleo essencial de cagaita (*Eugenia dysenterica*), hidrolado de pequi (*Caryocar brasiliense*), hidrolato de mentrasto (*Ageratum conyzoides*), hidrolato de sorgo (*Jatropha curcas*), hidrolato de nim (*Azadirachta indica*) e óleo comercial de nim (NEENMAX<sup>®</sup>), Tiofanato metílico e testemunha, e quatro repetições. No primeiro ensaio foram utilizadas cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação). No segundo ensaio foi feita apenas uma avaliação (dia em que o micélio do fungo cobriu toda a superfície do meio de cultura). Para avaliar a inibição do crescimento fúngico, tanto no Ensaio I quanto no Ensaio II, foram distribuídos 1,5  $\mu\text{L mL}^{-1}$  do tratamento na superfície do meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar). No Ensaio I os óleos essenciais de *Eucalyptus* sp., *M. piperita*, *L. alba*, *C. nardus* e *C. citratus* inibiram totalmente o crescimento do fungo *P. grisea*. Porém o patógeno *D. bryoniae* não apresentou crescimento micelial apenas no tratamento de *C. citratus*. Dos tratamentos avaliados o óleo de *C. nardus* foi que mais reduziu o crescimento micelial diário do fungo *D. bryoniae*, 2,12 mm dia<sup>-1</sup> contra 7,50 mm dia<sup>-1</sup> da testemunha. Para *P. grisea*, o tratamento destaque foi o óleo de *E. dysenterica* que reduziu o crescimento micelial diário de

7,17 mm dia<sup>-1</sup> para 4,89 mm dia<sup>-1</sup>. No Ensaio II, tanto o fungo *R. solani* quanto *S. rolfsii* não apresentaram crescimento micelial quando submetidos aos tratamentos de óleos essenciais de *M. piperita*, *L. alba*, *C. nardus* e *C. citratus*. Os óleos de *Eucalyptus* sp. e *E. dysenterica* apresentaram efeito fungitóxico intermediário, uma vez que, quando submetidos a esses tratamentos, os patógenos apresentaram um crescimento estatisticamente menor que o da testemunha e maior que aqueles sob os outros óleos essenciais.

**Palavras-chave:** Controle alternativo, Óleos essenciais e Hidrolatos.

### ABSTRACT

The use of vegetable compounds as an alternative to control plant pathogens has been featured in research studies that aim at mitigate the use of pesticides in agriculture. Fungi such as *Didymella bryoniae*, *Pyricularia grisea*, *Rhizoctonia solani*, and *Sclerotium rolfsii* are important to cause great losses in production. In this context, the purpose in Test I was to evaluate the fungitoxicity of plant extracts in inhibiting the growth of *D. bryoniae* and *P. grisea*, and in Test II it was to evaluate the fungitoxicity of the same extracts in inhibiting the growth of *R. solani* and *S. rolfsii*. The tests were conducted in completely randomized design with 11 extracts (essential oil of citronella (*C. nardus*), essential oil of lemongrass (*C. citratus*), essential oil of lemon balm (*Lippia alba*), essential oil of eucalyptus (*Eucalyptus* sp.), essential oil of peppermint (*Mentha piperita*), essential oil cagaita (*Eugenia dysenterica*), hydrolats pequi (*Caryocar brasiliense*), hydrolats of mentrasto (*Ageratum conyzoides*), hydrolats sorghum (*Jatropha curcas*), hydrolats de neem (*Azadirachta indica*) e commercial neem oil (NEENMAX<sup>®</sup>), Tiofanato metílico and control and four replications. In the first test, five evaluation periods were used (2, 4, 6, 8 and 10 days of incubation). In the second test, only one evaluation was performed (day on which the mycelium of the fungus covered the entire surface of the culture medium). To evaluate the inhibition of fungal growth in both tests, 1.5 µL mL<sup>-1</sup> of the treatment were distributed on the surface of PDA culture medium (potato-dextrose-agar). In Test I, the *Eucalyptus* sp., *M. piperita*, *L. alba*, *C. nardus*, and *C. citratus* essential oils completely inhibited the growth of the fungus *P. grisea*. Though the pathogen *D. bryoniae* did not show mycelial growth only in the treatment of *C. citratus*. Among the treatments evaluated, the *C. nardus* oil reduced even more the daily mycelial

growth of the *D. bryoniae* fungus, 2.12 mm day<sup>-1</sup> against 7.50 mm day<sup>-1</sup> of the witness. For *P. grisea*, the oil of *E. dysenterica* reduced mycelial growth daily 7.17 mm day<sup>-1</sup> to 4.89 mm day<sup>-1</sup>. In Test 2, the *R. solani* and *S. rolfii* fungi did not show mycelial growth when subjected to treatments of *M. piperita*, *L. alba*, *C. nardus*, and *C. citrates* essential oils. The *Eucalyptus* sp. and *E. dysenterica* oils showed intermediate fungitoxicity effect, since, when subjected to these treatments, the pathogens showed statistically lower growth than the witness growth and higher than those under the other essential oils.

**Keywords:** Alternative control, Essential oils and Hydrolats.

## INTRODUÇÃO

O crescimento urbano, que diminui as áreas apropriadas ao cultivo agrícola, somado ao crescimento populacional e a alta demanda e consumo de produtos alimentícios, tem exigido a utilização cada vez maior de produtos químicos na agricultura (Jardim & Andrade, 2009). Outros agravantes, que implicam na dependência de produtos químicos, são as perdas na produção, devido ao ataque de fungos, bactérias e vírus. Métodos que visam mitigar tais perdas na produção são de extrema importância na atualidade.

Ao longo das últimas décadas, as tentativas de controlar doenças de plantas são realizadas com uso de fungicidas sintéticos, por meio da erradicação ou prevenção. Embora muitos fungicidas sejam eficazes, seu uso contínuo interrompe o controle biológico natural, leva ao desenvolvimento de resistência a vários tipos de fungicidas e ocasiona problemas ambientais (Soylu et al., 2010). Assim, o desenvolvimento de novas alternativas de controle estão sendo buscadas.

O controle alternativo de fungos fitopatogênicos tem sido discutido amplamente no contexto atual. Sistemas de cultivo mais sustentáveis e menos dependentes do uso de agrotóxicos têm sido desenvolvidos. Diversos produtos naturais, entre os quais os óleos essenciais, apresentam potencial para controle de doenças de plantas.

Scapin et al. (2010) constataram efeitos fungitóxicos (fungicida/fungistático) em experimentos realizados *in vitro*, utilizando-se óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*). Medice et al. (2007) observaram que os óleos de eucalipto (*Eucalyptus citriodora*), nim (*Azadirachta indica*) e citronela (*Cymbopogon nardus*) tiveram efeito direto na

germinação dos urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi*, agente causal da ferrugem asiática da soja. Combrinck et al. (2011) avaliaram o efeito do óleo de pinhão-manso (*Jatropha curcas*) sobre os fungos *Lasiodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Alternaria citrii*, *Botrytis cinerea* e *Penicillium digitatum*.

Mesmo com tantas tecnologias, melhoramento genético e métodos de manejo de doenças, vários fungos se destacam como grandes problemas para a produção de alimentos.

O crestamento gomoso do caule, causada pelo fungo *Didymella bryoniae*, é uma doença importante da cultura da melancia e está presente em todas as regiões produtoras de curcubitáceas do país (Santos et al., 2011). A brusone, agente causal *Pyricularia grisea*, é uma das doenças mais destrutivas do arroz e tem ocorrência generalizada em todas as regiões rizícolas do mundo (Silva et al., 2009b). *Rhizoctonia solani* é um fungo de solo que ocorre em diversos tipos de plantas em todo o mundo, e é responsável por até 50% de perdas na cultura de feijão-caupi em alguns estados da Região Norte do Brasil (Sartorato et al., 2006). O fitopatógeno *Sclerotium rolfsii*, causador da podridão do colo, apresenta extensa gama de hospedeiros, cerca de 500 espécies botânicas (Mafia et al., 2007; Serra & Silva, 2005;).

Considerando que as pesquisas de controle de doenças fúngicas por meio do emprego de óleos essenciais tem crescido consideravelmente nos últimos anos (Diniz et al., 2008), e que a exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes em diferentes extratos de planta pode constituir uma forma efetiva de controle de doenças em plantas cultivadas, o objetivo desse trabalho foi selecionar, por meio de dois ensaios, extratos vegetais de plantas que apresentem efeito fungitóxico sobre os fungos *D. bryoniae*, *P. grisea* (Ensaio I), *R. solani* e *S. rolfsii* (Ensaio II).

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitopatologia, na Universidade Federal do Tocantins, Campus de Gurupi, TO.

### **Ensaio I: Fungitoxicidade de extratos vegetais sobre *D. bryoniae* e *P. grisea* em diferentes épocas de avaliação**

Para o Ensaio I foram utilizados os fitopatógenos *D. bryoniae* e *P. grisea*. Os fungos foram repicados de culturas armazenadas na Coleção Micológica do Laboratório de Fitopatologia, da Universidade Federal do Tocantins, Campus de Gurupi, TO.

Para a repicagem foram utilizadas placas de Petri de 90 x 15 mm com meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar), preparado com 250 g de batata, 20 g de dextrose e 20 g de ágar por litro de água. Foi acrescido 500 mg L<sup>-1</sup> de antibiótico Ampicilina para evitar contaminação por bactérias. Foram vertidos 20 mL de meio de cultura por placa de Petri. No centro da placa foi inoculado um disco de 6 mm de diâmetro de BDA contendo o material fúngico. As placas foram vedadas com filme plástico e mantidas em incubadora a 27°C.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial com quatro repetições, onde os fatores foram constituídos por 11 tipos de extratos (óleo essencial de citronela (*C. nardus*), óleo essencial de capim-limão (*C. citratus*), óleo essencial de erva-cidreira (*Lippia alba*), óleo essencial de eucalipto (*Eucalyptus* sp.), óleo essencial de hortelã-pimenta (*Mentha piperita*), óleo essencial de cagaita (*Eugenia dysenterica*), hidrolado de pequi (*Caryocar brasiliense*), hidrolato de mentrasto (*Ageratum conyzoides*), hidrolato de sorgo (*Jatropha curcas*), hidrolato de nim (*Azadirachta indica*) e óleo comercial de nim (NEENMAX<sup>®</sup>), Tiofanato metílico e testemunha, e por cinco épocas de avaliação (dois, quatro, seis, oito e dez dias de incubação).

Para obtenção dos extratos vegetais, folhas de citronela, capim-limão, erva-cidreira, cagaita, pequi, nim, mentrasto e pinhão-manso foram desidratadas à temperatura ambiente. A extração foi realizada pelo método de hidrodestilação (Castro et al., 2010), utilizando o aparelho de Clevenger. Os sobrenadantes resultantes da hidrodestilação foram coletados e armazenados em frascos estéreis. As extrações das folhas de pequi, nim, mentrasto e pinhão-manso não apresentaram sobrenadantes, assim, foram coletados os hidrolatos.

Os óleos essenciais de eucalipto e hortelã-pimenta (DOKMOS - Cosméticos<sup>®</sup>) e o óleo de comercial de nim (NEENMAX<sup>®</sup>) foram adquiridos no Mercado Municipal de Gurupi, TO.

Para verificar o efeito dos hidrolatos e óleos essenciais sobre o crescimento micelial dos fitopatógenos, 1,5 µL mL<sup>-1</sup> dos tratamentos foram distribuídos na superfície do meio de cultura com auxílio de uma alça tipo Drigalsky.U

No tratamento testemunha não foi adicionado nenhum produto ao meio de cultura. Como controle negativo foi utilizado Tiofanato metílico (1000 ppm), um fungicida de largo espectro.

Foram realizadas cinco avaliações por medições do diâmetro micelial (média de duas medidas diametralmente opostas), utilizando-se um paquímetro digital, a cada 48 horas, a partir da instalação do experimento, durante o período de 10 dias de incubação.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e regressão. No fator qualitativo, as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, e no fator quantitativo foram ajustadas equações de regressão com base no teste “t” dos coeficientes a 5% de probabilidade e no coeficiente de determinação ( $R^2$ ). As análises foram realizadas por meio do sistema computacional SAEG (Ribeiro Júnior & Melo, 2008).

## **Ensaio II: Fungitoxicidade de extratos vegetais sobre *R. solani* e *S. rolfsii***

Para o Ensaio II foram utilizados os fitopatógenos *R. solani* e *S. rolfsii*. Os fungos foram isolados de culturas armazenadas na Coleção Micológica do Laboratório de Fitopatologia, da Universidade Federal do Tocantins, Campus de Gurupi, TO.

O isolamento foi realizado da maneira que foi detalhado no Ensaio I.

Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado com os mesmos extratos, fungicida e testemunha descritos no Ensaio I, com quatro repetições.

A avaliação foi realizada por medições do diâmetro micelial (média de duas medidas diametralmente opostas), utilizando-se paquímetro digital, no dia em que o micélio do patógeno cobriu toda a superfície do meio de cultura, que ocorreu após quatro dias de incubação.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As análises foram realizadas por meio do sistema computacional SAEG (Ribeiro Júnior & Melo, 2008).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Ensaio I: Fungitoxicidade de extratos vegetais sobre *D. bryoniae* e *P. grisea* em diferentes épocas de avaliação**

O resultado da análise de variância (Tabela 1) revelou que as variações em função das fontes tratamentos, épocas de avaliações e a interação entre eles foram significativas a 1% de probabilidade para os dois patógenos avaliados.

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância do crescimento micelial (mm) de *Didymella bryoniae* e *Pyricularia grisea* submetidos a diferentes extratos vegetais, em diferentes épocas de avaliação.

Fontes de variação	<i>Didymella bryoniae</i>		<i>Pyricularia grisea</i>	
	G.L. <sup>1</sup>	Q.M. <sup>2</sup>	G.L.	Q.M.
Tratamentos	11	10935,49**	7	1025,00**
Épocas de avaliação	4	20702,90**	4	13589,22**
Trat. x Ep. de avaliação	44	421,49**	28	42,65**
Resíduo	180	22,27	120	9,68
Coeficiente de variação	11,84		10,10	

\*\* Significativo a 1% de probabilidade; <sup>1</sup>G.L.: Grau de liberdade; <sup>2</sup>Q.M.: Quadrado médio.

A Tabela 2 revela que não houve diferença significativa entre os tratamentos de hidrolatos (mentrasto, pinhão-manso e pequi) e a testemunha para os dois fitopatógenos avaliados. Embora muitos estudos sejam realizados com óleos essenciais, os hidrolatos podem apresentar compostos voláteis hidrossolúveis. Os hidrolatos avaliados nesse trabalho não apresentaram ação fungitóxica significativa. Franzener et al. (2007), em testes *in vitro*, avaliaram ação de diferentes concentrações de hidrolato de canela-de-veado (*Helietta apiculata*), citronela (*C. nardus*) e buva (*Conyza canadensis*) sobre o fungo *Alternaria brassicae*, e observaram que nenhum dos tratamentos inibiram o crescimento micelial dos patógenos. Assim, é possível que os compostos antifúngicos sintetizados por essas plantas se concentrem no óleo essencial, e se encontrem em pequenas quantidades no hidrolato.

Para o fungo *D. bryoniae*, o tratamento com Tiofanato metílico mostrou diferença significativa da testemunha apenas na segunda época de avaliação, sendo que o diâmetro micelial submetido ao fungicida foi maior do que o da testemunha (Tabela 2). Santos et al. (2006) testaram diferentes doses do fungicida sobre este fungo, e destacaram que todos os isolados avaliados foram resistentes a todas as doses testadas. O único tratamento em que o fungo não apresentou crescimento foi o óleo essencial de capim-limão (Tabela 2). Fiori et al. (2000) observaram a inibição do crescimento micelial de *D. bryoniae* quando submetido a tratamentos de 20µL do óleo essencial de capim-limão. Concentração de 1µL.mL<sup>-1</sup> desse óleo inibiu totalmente o crescimento micelial do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Souza Júnior et al., 2009).

**Tabela 2.** Diâmetro médio micelial (mm) de *Didymella bryoniae* e *Pyricularia grisea* submetidos a diferentes extratos vegetais, em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação).

Tratamentos	Épocas de avaliação (dias de incubação) <sup>1</sup>				
	2	4	6	8	10
<i>Didymella bryoniae</i>					
Testemunha	15,72ab	39,92cd	61,97b	82,86a	84,00a
Tiofanato metílico	23,75a	51,59ab	67,74ab	78,03ab	80,18a
Nim	24,08a	53,87a	76,31a	84,00a	84,00a
Mentrasto	17,98ab	42,82bc	64,00b	78,01ab	80,28a
Pinhão-manso	15,60ab	40,04cd	63,74b	83,41a	84,00a
Pequi	14,52ab	38,18cd	61,28b	84,00a	84,00a
Nim comercial	7,38bcd	20,71ef	34,41d	49,38c	64,67b
Cagaita	11,81bc	31,53de	49,77c	70,11b	81,39a
Eucalipto	3,62cd	14,87f	25,34d	35,22d	46,21c
Hortelã-pimenta	0,00d	0,00g	2,15e	5,12e	19,42d
Erva-cidreira	0,00d	0,00g	0,84e	6,60e	17,93d
Citronela	0,00d	0,00g	0,00e	9,78e	22,36d
Capim-limão <sup>2</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Pyricularia grisea</i>					
Testemunha	5,95ab	20,92ab	34,77a	48,74a	63,79a
Tiofanato metílico	4,87ab	15,75bc	26,78b	33,74b	53,77b
Nim	7,15a	22,23ab	35,91a	50,03a	64,24a
Mentrasto	7,29a	22,68a	37,18a	51,59a	65,05a
Pinhão-manso	7,05a	22,29ab	36,41a	50,25a	63,71a
Pequi	5,65ab	20,88ab	35,02a	49,68a	64,68a
Nim comercial	1,44ab	9,83cd	20,54bc	32,14b	45,56c
Cagaita	0b	8,89d	17,99c	28,53b	39,12c
Eucalipto <sup>2</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Hortelã-pimenta <sup>2</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Erva-cidreira <sup>2</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Citronela <sup>2</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Capim-limão <sup>2</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra na coluna, para cada fungo, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; <sup>2</sup>Tratamento que inibiu totalmente o crescimento micelial do fungo.

Quando submetido ao hidrolato de nim, *D. bryoniae* apresentou maior diâmetro micelial em todas as avaliações (Tabela 2). Venturoso et al. (2011), corroborando com observado neste experimento, destacou que o extrato de nim favoreceu o crescimento de *Fusarium solani*.

Após 10 dias de incubação, o óleo de eucalipto reduziu o crescimento micelial de *D. bryoniae* em 23%. Diferente do que foi encontrado, Fiori et al. (2000) observaram total inibição do crescimento micelial de *D. bryoniae*, quando submetido a 20 µl óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*. De acordo com Salgado et al. (2003), os óleos essenciais de eucalipto podem apresentar diferentes potencias fungitóxicos. Em testes *in vitro*, os autores observaram que os óleos essenciais de *E. citriodora*, *E. urophylla* e *E. camaldulensis* mostraram diversos potencias fungitóxicos sobre os fungos *F. oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana*, com destaque o *E. urophylla* que apresentou maior ação fungitóxica.

Os tratamentos com os óleos essenciais de eucalipto, hortelã-pimenta, erva-cidreira, citronela e capim-limão inibiram totalmente o crescimento micelial de *P. grisea* (Tabela 2). Após seis dias de incubação, o diâmetro micelial de *P. grisea* submetido ao fungicida foi significativamente menor do que o da testemunha (Tabela 2). Oliveira et al. (2001), destacam que o tiofanato metílico isoladamente ou em mistura, tanto em testes de laboratório quanto em testes de campo, reduzem os níveis de infecção por *P. grisea* na cultura do arroz.

Os tratamentos de óleo essencial de cagaita e nim comercial apresentaram efeito fungitóxico intermediário para *P. grisea*. O diâmetro do fungo foi significativamente menor que o da testemunha, mas estatisticamente maior que aqueles submetidos aos outros tratamentos de óleos essenciais (Tabela 2). Muitos trabalhos mostram o efeito antimicrobiano de extratos e óleos essenciais de cagaita. Costa et al. (2000), utilizando o óleo extraído das folhas de cagaita, observaram efeito fungitóxico contra os fungos dermatófitos *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* e *C. neoformans* var. *gatti*. O mesmo efeito fungitóxico foi observando contra espécies de cândida pelos autores Silva et al. (2001).

Na quinta avaliação, foi observado que o tratamento do óleo de nim comercial reduziu o crescimento micelial de *P. grisea* em 30%. Corroborando com este resultado, Triana e González (2009), avaliando diferentes concentrações de óleo de nim sobre *P. grisea*, observaram uma inibição de 40% do crescimento micelial do fungo.

A Figura 1 apresenta o crescimento micelial de *D. bryoniae* sob diferentes extratos vegetais. Observou-se que os óleos essenciais de hortelã-pimenta, erva-cidreira e citronela reduziram significativamente o crescimento diário do patógeno. O crescimento micelial foi de

2,12 e 2,73 mm dia<sup>-1</sup> para os tratamentos de erva-cidreira e citronela, respectivamente (Figura 1 D). Em contraste, na testemunha, o fungo cresceu em média 8,97 mm dia<sup>-1</sup> (Figura 1 A).

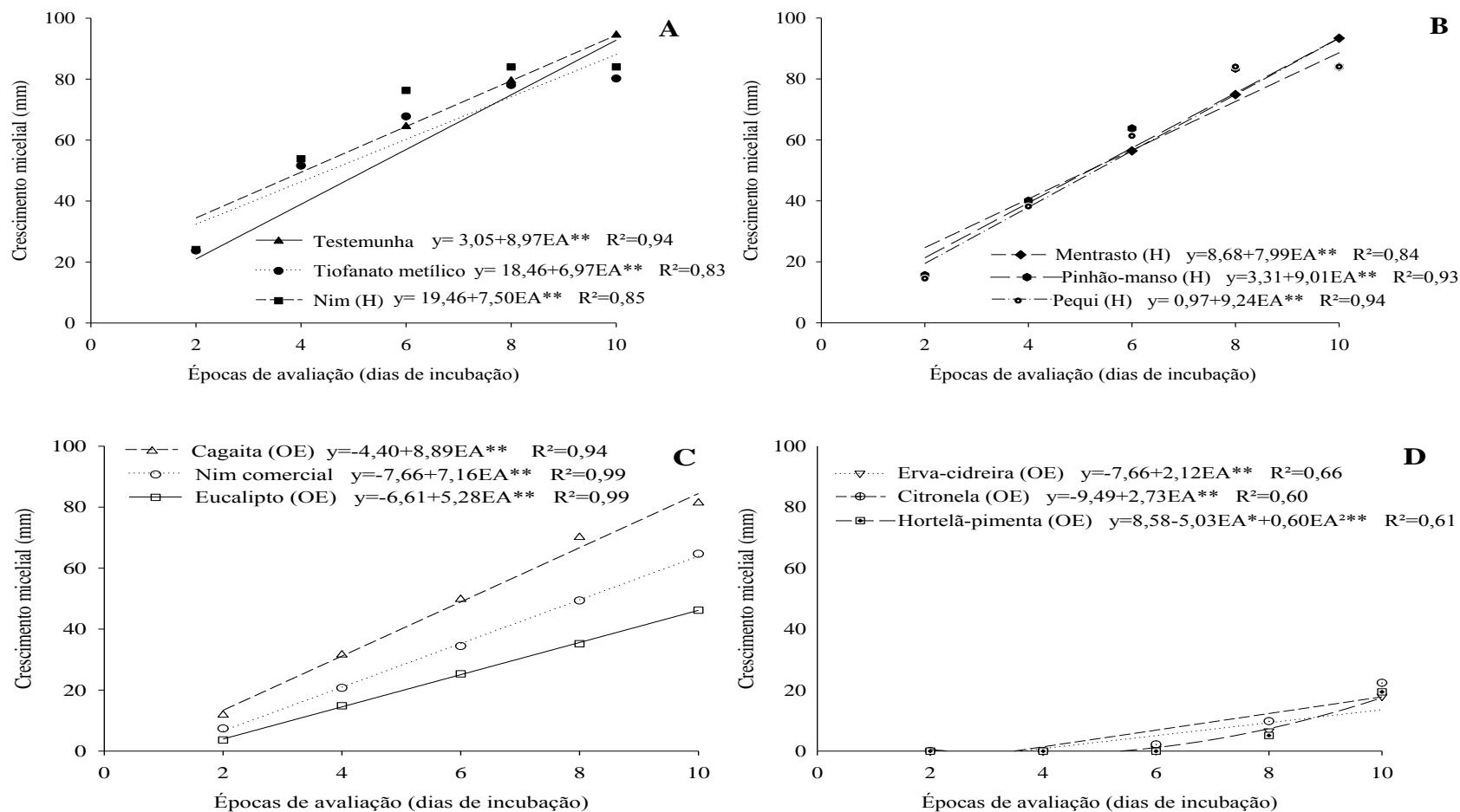
Tyagi e Malik (2011) observaram efeito antimicrobiano do óleo de hortelã-pimenta sobre os fitopatógenos *Penicillium digitatum*, *Aspergillus flavus*, *A. niger* e *Fusarium oxysporum*. Os autores Combrinck et al. (2011), avaliando o efeito de 2 µL mL<sup>-1</sup> e 3 µL mL<sup>-1</sup> do óleo de hortelã-pimenta, observaram inibição completa do crescimento micelial de *P. digitatum* e *C. gloeosporioides*, respectivamente.

Anaruma et al. (2010) observaram total inibição do crescimento micelial do fungo *C. gloeosporioides*, quando utilizaram 0,3 mg mL<sup>-1</sup> do óleo essencial de erva-cidreira. Atualmente, a erva-cidreira é uma planta promissora não somente para as indústrias farmacêuticas, como também para as agroindústrias químicas, uma vez que sua ação antifúngica tem sido bem relatada (Yamamoto et al., 2008).

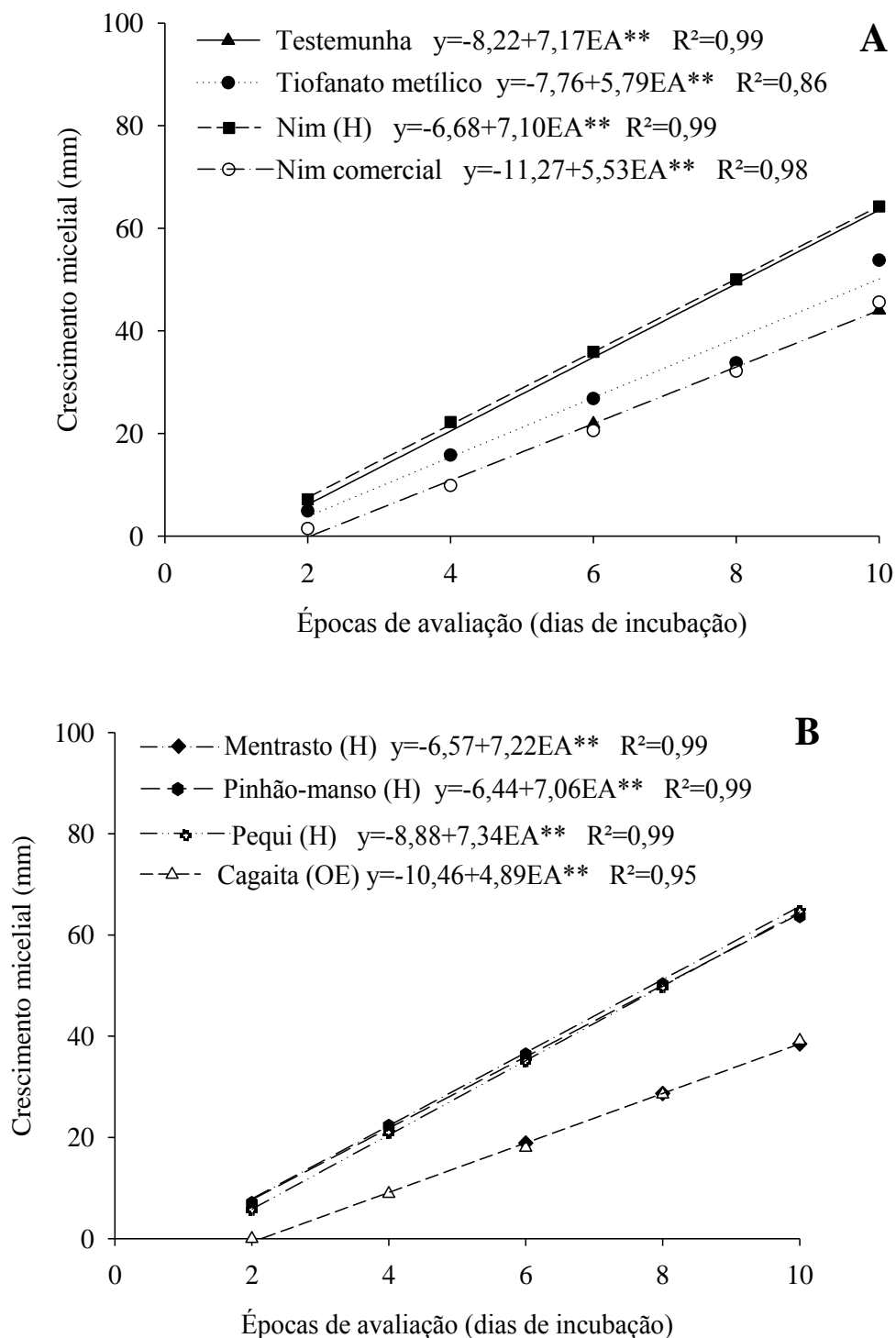
Pela Figura 2 constata-se o crescimento de *P. grisea* quando submetido a diferentes extratos vegetais. Sob os tratamentos testemunha e hidrolatos de nim, mentrasto, pinhão-manso e pequi, o fitopatógeno cresceu em média 7 mm dia<sup>-1</sup> (Figura 2 A e B). O menor crescimento micelial diário (4,89 mm dia<sup>-1</sup>) foi quando submetido ao óleo essencial de cagaita.

Os óleos essenciais de plantas são fontes potenciais de compostos antimicrobianos. Muitas vezes, é difícil comparar resultados obtidos em diferentes estudos, pois a composição e a quantidade dos óleos pode variar, dependendo da região geográfica, variedade, idade da planta, método de secagem e método de extração do óleo (Al-Reza et al., 2010).

Considerando que o óleo essencial de capim-limão (*C. citratus*) inibiu totalmente o crescimento micelial dos fitopatógenos *D. bryoniae* e *P. grisea* e que os óleos essenciais de eucalipto (*Eucalyptus* sp.), hortelã-pimenta (*M. piperita*), erva-cidreira (*L. alba*) e citronela (*C. nardus*) também inibiram o desenvolvimento de *P. grisea*, conclui-se que esses óleos essenciais são ferramentas em potencial para o controle alternativo desses fungos.



**Figura 1.** Crescimento micelial (mm) de *Didymella bryoniae* submetido aos tratamentos Testemunha, Tiofanato metílico e Hidrolato de nim (A), Hidrolato de mentrasto, pinhão-manso e pequi (B), Óleo essencial de cagaita, óleo comercial de nim e óleo essencial de eucalipto (C) e óleo essencial de erva-cidreira, citronela e hortelã-pimenta (D). \*\*Significativo a 1% de probabilidade pelo teste “t”; \* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste “t”; (H) Hidrolato; (OE) Óleo essencial.



**Figura 2.** Crescimento micelial (mm) de *Pyricularia grisea* submetido aos tratamentos Testemunha, Tiofanato metílico, hidrolato de Nim e óleo comercial de nim (A) e Hidrolato de mentrasto, pinhão-mansó, pequi e óleo essencial de cagaita (B). \*\* Significativo a 1% de probabilidade pelo teste “t”; (H) Hidrolato; (OE) Óleo essencial.

## Ensaio II: Fungitoxidade de extratos vegetais sobre *R. solani* e *S. rolfsii*

O resultado da análise de variância revelou que a variação do experimento em função da fonte tratamento foi significativa a 1% tanto para *R. solani* quanto para *S. rolfsii* (Tabela 3).

**Tabela 3.** Resumo da análise de variância do crescimento micelial (mm) de *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii* submetidos a diferentes extratos vegetais em diferentes épocas de avaliação.

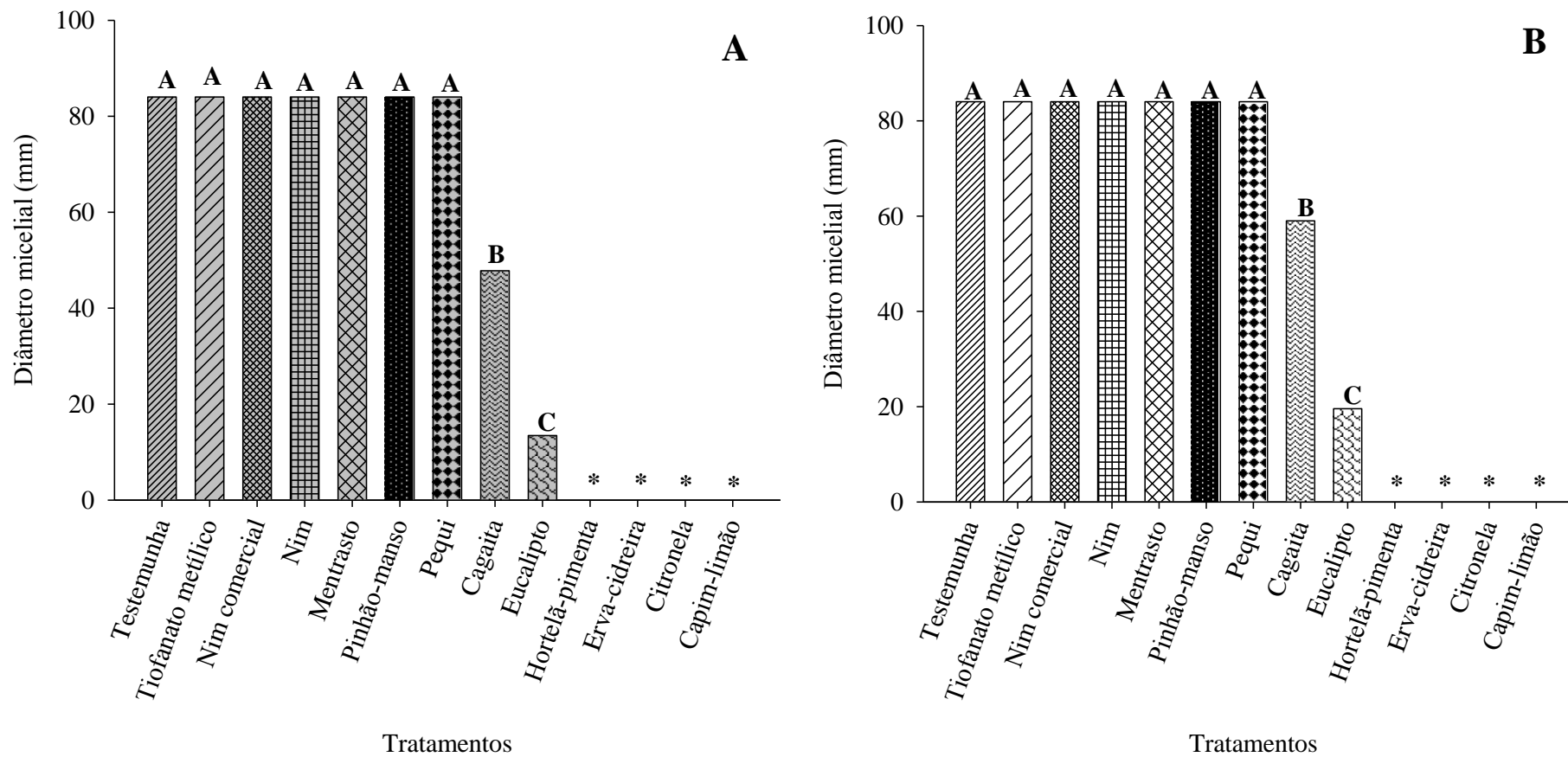
Fontes de variação	<i>Rhizoctonia solani</i>		<i>Sclerotium rolfsii</i>	
	G.L. <sup>1</sup>	Q.M. <sup>2</sup>	G.L.	Q.M.
Tratamentos	8	10935,49**	8	1025,00**
Resíduo	27	22,27	27	9,68
Coeficiente de variação	3,24		7,18	

\*\* Significativo a 1% de probabilidade; <sup>1</sup>G.L.: Grau de liberdade; <sup>2</sup>Q.M.: Quadrado médio.

A resposta do crescimento micelial dos fungos *R. solani* e *S. rolfsii* sob os diferentes tratamentos foi semelhante para os dois fungos. Observou-se que os óleos essenciais de hortelã-pimenta, erva-cidreira, citronela e capim-limão inibiram totalmente o crescimento dos patógenos (Figura 3). Guimarães et al. (2011) avaliando a atividade do óleo essencial de capim-limão observaram alta fungitoxicidade do óleo sobre os fungos fitopatogênicos *Alternaria alternata*, *C. gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum cubense* e *Bipolaris* sp.

Estudos mostram a ação de outros óleos essenciais sobre *R. solani* e *S. rolfsii*. Benini et al. (2010) testaram 20, 40 e 60 µL do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* sobre *R. solani* e *S. rolfsii*, e verificaram que todas as doses inibiram totalmente o crescimento dos fungos. Derbalah et al. (2011) avaliaram o efeito de diferentes extratos de plantas sobre o crescimento micelial de *S. rolfsii* e destacaram a inibição de 82,8% do crescimento do fungo quando submetido a 200 ppm do extrato da planta *Thespesia populnea* var. *acuteloba*.

Não houve diferença significativa entre a testemunha e os tratamentos de hidrolatos (nim, mentrasto, pinhão-manso e pequi), tiofanato metílico e óleo comercial de nim (NEENMAX<sup>®</sup>) (Figura 3). Silva et al. (2009a) avaliando o efeito do hidrolato e do óleo essencial de capim-limão sobre o crescimento do fungo *C. gloeosporioides* observaram que o óleo inibiu totalmente o desenvolvimento do patógeno e o hidrolato não diferiu da testemunha.



**Figura 3.** Diâmetro médio micelial (mm) de *Rhizoctonia solani* (A) e *Sclerotium rolfsii* (B) submetidos a diferentes extratos vegetais após quatro dias de incubação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. \* Tratamentos que inibiram totalmente o crescimento do fungo.

Triana e González (2009), avaliando o efeito do óleo de nim sobre os fungos *P. grisea* e *R. solani*, observaram redução no crescimento micelial desses patógenos. Esses autores destacaram que o óleo de nim apresentou uma porcentagem de inibição de 56% para o patógeno *R. solani*. Esses resultados diferiram do que foi encontrado neste estudo, onde a porcentagem de inibição para o mesmo patógeno foi zero.

Os tratamentos de óleos essenciais de cagaita e eucalipto apresentaram efeito fungitóxico intermediário para ambos os patógenos. Reduziram o crescimento micelial do fungo *R. solani* em 43 e 84% e do *S. rolfsii* em 30 e 77%, respectivamente. Pereira et al. (2011) observaram diminuição do crescimento micelial de *Cercospora coffeicola* quando submetido ao óleo essencial de *E. citriodora*. Souza et al. (2002), relataram o potencial da atividade antifúngica de diferentes plantas do Cerrado, destacando o uso de extratos e compostos bioativos da cagaita.

Pereira et al. (2006) observaram inibição no desenvolvimento dos fungos *Aspergillus niger*, *A. flavus* e *Fusarium* sp. quando submetidos ao tratamento do óleo de hortelã-pimenta. Pereira et al. (2011) relatam total inibição do desenvolvimento do fungo *C. coffeicola* pelo óleo de citronela.

Tagami et al. (2009) testaram a fungitoxidade de extratos de erva-cidreira no desenvolvimento dos fungos *R. solani* e *S. rolfsii* e destacaram baixas taxas de inibição do crescimento. No atual estudo, como foi utilizado óleo essencial, a fungitoxidade foi maior, apresentando inibição de 100% do crescimento micelial para esses patógenos.

Os óleos essenciais inibem ou reduzem o crescimento micelial devido à ação das substâncias presentes em sua composição. Essas substâncias podem afetar a integridade das membranas celulares, causando o derramamento do conteúdo celular (Pereira et al., 2011). Costa et al. (2011) avaliando o efeito do óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) sobre as hifas de *R. solani*, observaram diferentes alterações morfológicas, tais como a presença de vacúolos, desorganização dos conteúdos celulares, diminuição na nitidez da parede celular, intensa fragmentação e menor turgência das hifas.

Assim, devido a eficiência na inibição do crescimento micelial dos fungos *R. solani* e *S. rolfsii*, pelos óleos essenciais de hortelã-pimenta (*M. piperita*), erva-cidreira (*L. alba*), citronela (*C. nardus*) e capim-limão (*C. citratus*) conclui-se que esses óleos apresentam alto potencial de controle para esses fitopatógenos.

Assim, conforme os resultados apresentados no Ensaio I e Ensaio II, os óleos essenciais de capim-limão, citronela, erva-cidreira e hortelã-pimenta foram selecionados entre os extratos avaliados, para serem utilizados nos experimentos posteriores.

## REFERÊNCIAS

AL-REZA, S. M.; RAHMAN, A.; AHMED, Y.; KANG, S. C. Inhibition of plant pathogens in vitro and in vivo with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 96, p. 86-92, 2010.

ANARUMA, N. D.; SCHMIDT, F. L.; DUARTE, M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; DELARMELINA, C.; BENATO, E. A.; SATORATTO, A. Control of *Colletotrichum gloeosporioides* (penz.) Sacc. in yellow passion fruit using *Cymbopogon citratus* essential oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, p. 66-73, 2010.

BENINI, P. C.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; KLAIS, E. C.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; MESQUINE, R. M.; STANGARLIN, J. R.; TOLENTINO JÚNIOR, J. B. Efeito in vitro do óleo essencial e extrato aquoso de *Ocimum gratissimum* colhido nas quatro estações do ano sobre fitopatógenos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 4, p. 677-683, 2010.

CASTRO, H. G.; PERINI, V. B. M.; SANTOS, G. R.; LEAL, T. C. A. B. Avaliação do teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.) em diferentes épocas de colheita. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 2 p. 308-314, 2010.

COMBRINCK, S.; REGNIER, T.; KAMATOU, G. P. P. In vitro activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. **Industrial Crops and Products**, v. 33, p. 344-349, 2011.

COSTA, A. R. T.; AMARAL, M. F. Z. J.; MARTINS, P. M.; PAULA, J. A. M.; FIUZA, T. S.; RESVENZOL, L. M. F.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Ação do óleo essencial de

*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.2, p.240-245, 2011.

COSTA, T. R.; FERNANDES, O. F. L.; SANTOS, S. C.; OLIVEIRA, C. M. A.; LIÃO, L. M.; FERRI, P. H.; PAULA, J. R. P.; FERREIRA, H. D.; SALES, H. N.; SILVA, M. R. R. Antifungal activity of volatile constituents of *Eugenia dysenterica* leaf oil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, p. 111-117, 2000.

DERBALAH, A. S.; DEWIR, Y. H.; EL-SAYED, A. E. Antifungal activity of some plant extracts against sugar beet damping-off caused by *Sclerotium rolfsii*. **Annals of Microbiology**, 2011.

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 fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.10, n.4, p.9-11, 2008.

FIORI, A. C. G.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; SCAPIM, C. A.; CRUZ, M. E. S. PASCHOLATI, S. F. Antifungal Activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. **Journal of Phytopathology**, 148, p. 483-487, 2000.

FRANZENER, G.; MARTINEZ-FRANZENER, A. S.; STANGARLIN, J. R.; CZEPAK, M. P.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S. Atividades antibacteriana, antifúngica e indutora de fitoalexinas de hidrolatos de plantas medicinais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 1, p. 29-38, 2007.

GUIMARÃES, L. G. L.; CARDOSO, M. G.; SOUSA, P. E.; ANDRADE, J.; VIEIRA, S. S. Atividades antioxidante e fungitóxica do óleo essencial de capim-limão e do citral. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 464-472, 2011.

JARDIM, I. C. S. F.; ANDRADE, J. A. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global - um enfoque às maçãs. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 996-1012, 2009.

MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; REZENDE JÚNIOR, M. F. R. Tombamento de mudas de espécies florestais causado por *Sclerotium rolfsii* Sacc. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 31, n. 4, p. 629-634, 2007.

MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R. T.; JUNIOR, R. G. M.; LOPES, E. A. G. L. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *phakopsora pachyrhizi* syd. & p. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 83-90, 2007.

OLIVEIRA, W. F.; PIMENTEL, D. M.; ALBERNAZ, R. S.; MACHADO, L. A.; BATISTA, R. G.; RAMALHO, V. Efeito de produtos fitossanitários no tratamento de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) visando o controle de *Pyricularia grisea*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 31, n.1, p. 43-46, 2001.

PEREIRA, M. C.; VILELA, G. R.; COSTA, L. M. A. S.; SILVA, R. F.; FERNANDES, A. F.; FONSECA, E. W. N.; PICCOLI, R. H. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.4, p. 731-738, 2006.

PEREIRA, R. B.; LUCAS, G. C.; PERINA, F. J.; RESENDE, M. L. V.; ALVES, E. Potential of essential oils for the control of brown eye spot in coffee plants. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 1, p. 115-123, 2011.

RIBEIRO JÚNIOR, J. I.; MELO, A. L. P. **Guia Prático para Utilização do SAEG**. Viçosa: UFV, 2008. 288p.

SALGADO, A. P. S. P.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; SOUZA, J. P.; ABREU, C. M. P.; PINTO, J. E. B. P. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 2, p.249-254, 2003.

SANTOS, G. R.; CAFÉ-FILHO, A.; REIS, A. Resistência de *Didymella bryoniae* a Fungicidas no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n.5, p. 476-482, 2006.

SANTOS, G. R.; LEÃO, E. U.; CASTRO, H. G.; NASCIMENTO, I. R.; SARMENTO, R. A.; SARMENTO-BRUM, R. B. C. Crestamento gomoso do caule da melancia: Etiologia, epidemiologia e medidas de controle. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 2, n. 2, p. 52-58, 2011.

SARTORATO, A.; NECHET, K. L.; HALFELD-VIEIRA, B. A. Diversidade Genética de Isolados de *Rhizoctonia solani* coletados em Feijão-caupi no Estado de Roraima. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 3, p. 297-301, 2006.

SCAPIN, C. R.; CARNELOSSI, P. R.; VIEIRA, R. A.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S. Fungitoxidade in vitro de extratos vegetais sobre *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.12, n.1, p.57-61, 2010.

SERRA, I. M. R. S.; SILVA, G. S. Caracterização biológica e fisiológica de isolados de *Sclerotium rolfsii* obtidos de pimentão no estado do Maranhão. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 1, p. 61-66, 2005.

SILVA, A. C.; SALES, N. L. P.; ARAÚJO, A. V.; CALDEIRA JÚNIOR, C. F. Efeito *in vitro* de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. isolado do maracujazeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, Edição Especial, p. 1853 -1860, 2009a.

SILVA, C. P.; NOMURA, E.; FREITAS, E. G.; BRUGNARO, C.; URASHIMA, A. S. Eficiência de tratamentos alternativos no controle de *Pyricularia grisea* em sementes de trigo. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 2, p. 127-131, 2009b.

SILVA, M. V.; COSTA, T. R.; COSTA, M. R.; FERREIRA, E. C.; FERNANDES, O. F. L.; SANTOS, S. C.; LIÃO, L. M.; FERRI, P. H.; PAULA, J. R.; FERREIRA, H. D.; SILVA, M.

R. R. Growth inhibition effect of Brazilian cerrado plant extracts on *Candida* species. **Pharmaceutical Biology**, v. 39, p. 138-141, 2001.

SOUZA JÚNIOR, I. T.; SALES, N. L. P.; MARTINS, E. R. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. **Revista Biotemas**, v. 22, n. 3, p. 77-83, 2009.

SOUZA, L. K.; OLIVEIRA, C. M. A.; FERRI, P. H.; SANTOS, S. C.; JÚNIOR, J. G. O.; MIRANDA, A. T. B. M.; LIÃO, L. M.; SILVA, M. R. R. Antifungal Properties of Brazilian Cerrado Plants. **Brazilian Journal Microbiology**, v. 33, p. 247-249, 2002.

SOYLU, E. M.; KURT, S.; SOYLU, S. In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. **International Journal of Food Microbiology**, 143, n. 3, p. 183-189, 2010.

TAGAMI, O. K.; GASPARIN, M. D. G.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; TOLENTINO JÚNIOR, J. B.; MORAES, L. M.; STANGARLIN, J. R. Fungitoxicidade de *Bidens pilosa*, *Thymus vulgaris*, *Lippia alba* e *Rosmarinus officinalis* no desenvolvimento in vitro de fungos fitopatogênicos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 285-294, 2009.

TRIANA, A. C.; GONZÁLEZ, D. R. Efecto Del OleoNim 50 CE sobre el crecimiento y desarrollo in vitro de hongos fitopatógenos del arroz (*Oryza sativa* Lin.). **Fitosanidad**, v. 13, n. 4, p. 271-276, 2009.

TYAGI, A. K.; MALIK, A. Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. **Food Control**, v. 22, p. 1707-1714, 2011.

VENTUROSO, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; CONUS, L. A.; PONTIM, C. A.; BERGAMIN, A. C. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 37, n. 1, p. 18-23, 2011.

YAMAMOTO, P. Y.; COLOMBO, C. A.; FILHO, J. A. A.; LOURENÇÃO, A. L.; MARQUES, M. O. M.; MORAIS, G. D. S.; CHIORATO, A. F.; MARTINS, A. L. M.; SIQUEIRA, W. J. Performance of ginger grass (*Lippia alba*) for traits related to the production of essential oil. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, n. 5, p. 481-489, 2008.

## **CAPÍTULO III**

---

---

**Efeito de óleos essenciais sobre fitopatógenos que  
causam manchas foliares em culturas da  
Família Poaceae**

## **Efeito de óleos essenciais sobre fitopatógenos que causam manchas foliares em culturas da Família Poaceae**

Effect of essential oils on pathogens that cause leaf spots in cultures Family Poaceae

### **RESUMO**

A família Poaceae, composta pelas gramíneas, destaca-se pela produção de grãos e plantas forrageiras. Manchas foliares, causadas por fungos fitopatogênicos, comprometem a produção de cereais e a qualidade das forrageiras. Métodos alternativos de controle estão sendo buscados, e o uso de óleos essenciais de plantas medicinais apresenta potencial para o manejo de doenças fúngicas. Assim, objetivou-se avaliar a fungitoxicidade dos óleos essenciais de *Cymbopogon citratus*, *C. nardus*, *Lippia alba* e *Mentha piperita* sobre os fungos *Colletotrichum graminicola*, *Helminthosporium* sp. e *Pyricularia grisea*. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial com quatro repetições, onde os fatores foram constituídos por cinco concentrações do óleo essencial ( $C_1= 0,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_2= 0,50 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_3= 0,75 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_4= 1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  e  $C_5= 1,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) e testemunha, e por cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação). Os óleos essenciais de *C. nardus* e *C. citratus* foram os mais eficientes na redução do crescimento micelial dos fitopatógenos avaliados. Sob a concentração  $C_3$  do óleo essencial de *M. piperita*, *C. graminicola* apresentou  $1,37 \text{ mm dia}^{-1}$  de crescimento micelial. O fungo *Helminthosporium* sp. apresentou crescimento até a maior concentração ( $1,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) do óleo essencial de *L. alba*. Quanto maior a concentração do óleo essencial de *L. alba*, menor o crescimento micelial diário de *P. grisea*.

**Palavras-chave:** Plantas medicinais. Crescimento micelial. Controle alternativo. *Colletotrichum graminicola*. *Helminthosporium* sp. *Pyricularia grisea*.

## ABSTRACT

The Poaceae family, composed of gramineous plants, stands out for the production of grain and forage. Leaf spots, caused by pathogenic fungi, jeopardize the production of cereals and the forage quality. Alternative controlling methods are being searched, and the use of essential oils of medicinal plants has shown potential to the handling of fungal diseases. Thus, the purpose was to evaluate different concentrations of *Cymbopogon citratus*, *C. nardus*, *Lippia alba*, *Mentha piperita* essential oils on the *Colletotrichum graminicola*, *Helminthosporium* sp., and *Pyricularia grisea* fungi. We used a fully randomized design in factorial scheme with four replications, where the factors were composed of five concentrations of essential oil ( $C_1= 0,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_2= 0,50 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_3= 0,75 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_4= 1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ , and  $C_5= 1,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) and a witness, and for five evaluation periods (2, 4, 6, 8 and 10 days of incubation). The *C. nardus* and *C. citratus* essential oils were the most effective in reducing mycelial growth of the evaluated pathogens. Under  $0,75 \mu\text{L mL}^{-1}$  concentration of *M. piperita* essential oil, *C. graminicola* showed  $1.37 \text{ mm day}^{-1}$  of mycelial growth. The *Helminthosporium* sp. fungus showed mycelial growth rate in highest concentration ( $1,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) of *L. alba* essential oil. The higher the concentration of *L. alba* essential oil, lower the daily mycelial growth of *P. grisea*.

**Keywords:** Medicinal plants. Mycelial growth. Alternative control. *Colletotrichum graminicola*. *Helminthosporium* sp. *Pyricularia grisea*.

## INTRODUÇÃO

A família Poaceae é muito importante para a economia, composta pelas gramíneas, ela se destaca pela produção de grãos, o principal alimento cultivado no mundo, e pelas plantas forrageiras. Um fator limitante para a produção de cereais e para a qualidade das forrageiras é o número de doenças fúngicas que ocorrem em gramíneas. As manchas foliares, causadas por fungos fitopatogênicos, reduzem a área foliar e podem prejudicar a taxa fotossintética das plantas e, conseqüentemente, reduzir a produção da cultura (Godoy et al., 2001).

A brusone, causada por *Pyricularia grisea*, é a doença mais destrutiva do arroz (Prabhu et al., 2002; Urashima et al., 2007; Lobo, 2008). A antracnose, agente causal

*Colletotrichum graminicola*, é considerada a doença mais importante para a cultura do sorgo no Brasil (Costa et al., 2003). A helmintosporiose, causada por *Exserohilum turcicum* (Pass.) (sin. *Helminthosporium turcicum* Pass.), é um dos principais problemas fitossanitários da cultura do milho no Brasil, podendo causar danos consideráveis em regiões com alta umidade e temperaturas moderadas (Scapin et al., 2010).

Para o controle da maioria das doenças de plantas, atualmente, é utilizado, principalmente, o tratamento químico, que visa reduzir ou erradicar o inóculo no campo. Porém, a restrição ao uso de fungicidas, devido os efeitos residuais e resistência pelos patógenos, tem levado a busca de métodos alternativos de controle (Bastos & Albuquerque, 2004; Celoto et al., 2011).

Na natureza, muitas plantas são resistentes a diferentes patógenos, e essa resistência pode estar relacionada a compostos fungicidas produzidos naturalmente pela planta (Salgado et al., 2003). A identificação desses compostos químicos a partir de plantas medicinais, por exemplo, possibilita a obtenção de substâncias que podem controlar ou inibir o desenvolvimento de fitopatógenos (Silva et al., 2009).

Originários do metabolismo das plantas, os óleos essenciais possuem uma complexa composição química e são considerados fontes de substâncias biologicamente ativas, principalmente contra microrganismos (Oliveira et al., 2011).

Existem relatos sobre a atividade antifúngica (Tian et al., 2011; Tyagi & Malik, 2011a) dos óleos essenciais de citronela (*Cymbopogon nardus*) (Medice et al., 2007; Pereira et al., 2011), capim-limão (*C. citratus*) (Fiori et al., 2000), erva-cidreira (*Lippia alba*) (Tagami et al., 2009) e hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) (Pereira et al., 2006; Hussain et al., 2010; Tyagi & Malik, 2011b).

Considerando o impacto das doenças brusone do arroz, antracnose do sorgo e helmintosporiose do capim Tanzânia, a crescente busca por métodos alternativos de controle e o potencial antifúngico de plantas medicinais, o objetivo desse trabalho foi avaliar a fungitoxicidade dos óleos essenciais de citronela (*C. nardus*), capim-limão (*C. citratus*), erva-cidreira (*L. alba*) e hortelã-pimenta (*M. piperita*), selecionados em experimentos anteriores (Capítulo II), sobre os fitopatógenos *P. grisea*, *C. graminicola* e *Helminthosporium* sp.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitopatologia, na Universidade Federal do Tocantins, Campus de Gurupi, TO

Os fungos fitopatogênicos *C. graminicola* e *P. grisea* foram repicados de culturas armazenadas na Coleção Micológica do Laboratório de Fitopatologia, da Universidade Federal do Tocantins, Campus de Gurupi. O fungo *Helminthosporium* sp. foi isolado de folhas de capim (*Panicum maximum*) cultivado no Campus.

Para a repicagem e isolamento foram utilizadas placas de Petri de 90 x 15 mm com meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar), preparado com 250 g de batata, 20 g de dextrose e 20 g de ágar por litro de água. Foi acrescido 500 mg L<sup>-1</sup> de antibiótico Ampicilina para evitar contaminação por bactérias. Foram vertidos 20 mL de meio de cultura por placa de Petri. No centro da placa foi inoculado um disco de 6 mm de diâmetro de BDA contendo o material fúngico. As placas foram vedadas com filme plástico PVC, identificadas e incubadas à temperatura de 27 °C.

Para cada fungo e óleo essencial, foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial, com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos por cinco concentrações do óleo (C<sub>1</sub>= 0,25 µL mL<sup>-1</sup>; C<sub>2</sub>= 0,50 µL mL<sup>-1</sup>; C<sub>3</sub>= 0,75 µL mL<sup>-1</sup>; C<sub>4</sub>= 1,0 µL mL<sup>-1</sup> e C<sub>5</sub>= 1,25 µL mL<sup>-1</sup>) e testemunha, e por cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação).

Para obtenção dos óleos essenciais, folhas de citronela (*Cymbopogon nardus*), capim-limão (*C. citratus*) e erva-cidreira (*Lippia alba*) foram desidratadas à temperatura ambiente. A extração foi realizada pelo método de hidrodestilação (Castro et al., 2010), utilizando o aparelho de Clevenger. Os sobrenadantes foram coletados e armazenados em frascos estéreis.

O óleo de hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) (DOKMOS - Cosméticos®) foi adquirido no Mercado Municipal de Gurupi-TO.

Para verificar o efeito dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial dos fitopatógenos os óleos foram distribuídos na superfície do meio de cultura com auxílio de uma alça tipo Drigalsky. Após a distribuição, um disco de 6 mm de diâmetro de BDA contendo micélio do fungo foi colocado no centro das placas. As placas foram vedadas com filme plástico PVC, identificadas e incubadas à temperatura de 27 °C.

Foram realizadas cinco avaliações (dois, quatro, seis, oito e dez dias de incubação) por medições do diâmetro micelial (média de duas medidas diametralmente opostas), utilizando-se paquímetro digital.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e regressão. No fator qualitativo, as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. No fator quantitativo foram ajustadas equações de regressão com base no teste “t” dos coeficientes a 5% de probabilidade e no coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>). As análises foram realizadas por meio do sistema computacional SAEG (Ribeiro Júnior & Melo, 2008).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado da análise de variância (Tabela 1) revelou que as variações em função das concentrações, épocas de avaliação e a interação entre eles foram significativas a 1% de probabilidade para o fungo *Helminthosporium* sp. em todos os óleos avaliados. O mesmo foi observado para *P. grisea*, com exceção da interação entre as épocas de avaliação e as concentrações do óleo essencial de citronela, que foi significativo a 5%. Essa interação entre as fontes de variação não foi significativa para o patógeno *C. graminicola* quando submetido ao óleo de capim-limão. Para os outros óleos foram significativo a 1% de probabilidade.

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância do crescimento micelial dos fungos *Colletotrichum graminicola*, *Helminthosporium* sp. e *Pyricularia grisea*, submetidos a diferentes concentrações (Conc.) dos óleos essenciais de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), citronela (*Cymbopogon nardus*), erva-cidreira (*Lippia alba*) e hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) em cinco épocas de avaliação (E. A.).

Fontes de variação	Capim-limão		Citronela		Erva-cidreira		Hortelã-pimenta	
	G.L. <sup>1</sup>	Q.M. <sup>2</sup>	G.L.	Q.M.	G.L.	Q.M.	G.L.	Q.M.
<i>Colletotrichum graminicola</i>								
E. A.	4	4334,68**	4	3901,53**	4	5163,95**	4	5169,74**
Conc.	1	1325,26**	2	5032,87**	3	5290,19**	3	5236,53**
E.A.xConc.	4	4,45 <sup>ns</sup>	8	200,80**	12	322,47**	12	371,21**
Resíduo	30	6,36	45	13,55	60	5,70	60	11,07
C.V. <sup>3</sup>	7,21		14,94		9,49		13,62	
<i>Helminthosporium</i> sp.								

E. A.	4	3858,36**	4	4599,59**	4	5090,71**	4	8785,61**
Conc.	2	20613,58**	2	15748,29**	5	13593,47**	5	12759,13**
E.A.xConc.	8	898,79**	8	397,16**	20	621,49**	20	783,81**
Resíduo	45	2,37	45	18,43	90	16,42	90	23,41
C.V.		4,90		12,21		17,25		16,87
<i>Pyricularia grisea</i>								
E. A.	4	2782,64**	4	4334,48**	4	5315,08**	4	3722,80**
Conc.	1	3029,17**	2	1665,21**	3	2334,60**	2	2740,84**
E.A.xConc.	4	108,24**	8	72,77*	12	82,99**	8	102,78**
Resíduo	30	9,27	45	19,21	60	4,31	45	1,58
C.V.		11,40		16,51		8,73		5,43

\*\*Significativo a 1% de probabilidade; \*Significativo a 5% de probabilidade; <sup>ns</sup>Não significativo; <sup>1</sup>G.L.: Graus de liberdade; <sup>2</sup>Q.M.: Quadrado Médio; <sup>3</sup>C.V.: Coeficiente de variação.

Na Tabela 2 verifica-se o diâmetro médio micelial do fitopatógeno *C. graminicola* sob as diferentes concentrações dos óleos avaliados. O óleo essencial de capim-limão se destacou como o mais fungitóxico, uma vez que inibiu o crescimento do fungo a partir da concentração C<sub>2</sub> (0,50 µL mL<sup>-1</sup>). O óleo essencial de capim-limão é rico em citral e limoneno, e a ação fungitóxica desses compostos é confirmada em alguns estudos (Guimarães et al., 2011; Combrinck et al., 2011).

Diferentes estudos destacam a ação de extrato e óleo essencial de capim-limão sobre o fitopatógeno *Colletotrichum gloeosporioides*. Carvalho et al. (2008) destacaram que quanto maior a concentração do extrato bruto aquoso de folhas de capim-limão, menor o crescimento micelial e esporulação de *C. gloeosporioides*. Total inibição do desenvolvimento do patógeno, pela ação do óleo essencial de capim-limão, foi observada por Canelossi et al. (2009) e Silva et al. (2009). Souza-Júnior et al. (2009) observaram total inibição da germinação de esporos de *C. gloeosporioides*, sob o tratamento com óleo essencial de capim-limão.

As concentrações C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> e C<sub>5</sub> do óleo de citronela também inibiram totalmente o desenvolvimento do patógeno. Moreira et al. (2008) avaliando extratos de folhas de citronela, não observaram efeito significativo sobre a germinação de esporos e formação de apressórios por *Colletotrichum lagenarium*. Porém, a ação fungitóxica do óleo essencial de citronela foi observada sobre a germinação e alongamento dos tubos germinativos do patógeno *Cercospora coffeicola* (Pereira et al., 2011).

**Tabela 2.** Diâmetro médio micelial (mm) de *Colletotrichum graminicola* sob cinco concentrações ( $C_1= 0,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_2= 0,50 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_3= 0,75 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_4= 1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  e  $C_5= 1,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) dos óleos essenciais de capim-limão, citronela, erva-cidreira e hortelã-pimenta, em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação).

Concentração	Épocas de avaliação (dias de incubação)				
	2	4	6	8	10
Capim-limão					
Test	9,82a	26,93a	42,03a	55,94a	69,01a
$C_1$	0,00b	13,13b	30,44b	45,31b	57,27b
$C_2^1$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
$C_3^1$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
$C_4^1$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
$C_5^1$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Citronela					
Test	9,82a	26,93a	42,03a	55,94a	69,01a
$C_1$	0,00b	10,79b	23,14b	36,75b	49,97b
$C_2$	0,00b	0,00c	4,56c	13,27c	27,33c
$C_3^1$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
$C_4^1$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
$C_5^1$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Erva-cidreira					
Test	9,82a	26,93a	42,03a	55,94a	69,01a
$C_1$	4,01b	20,14b	36,90b	48,47b	61,85b
$C_2$	0,00b	6,07c	20,11c	31,22c	51,71c
$C_3$	0,00b	0,00d	0,00d	4,46d	14,52d
$C_4^1$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
$C_5^1$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Hortelã-pimenta					
Test	9,82a	26,93a	42,03a	55,94a	69,01a
$C_1$	0,98b	15,73b	31,67b	48,78b	61,61b
$C_2$	0,00b	5,54c	21,62c	37,44c	46,58c
$C_3$	0,00b	0,00c	0,00d	2,12d	12,70d
$C_4^1$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
$C_5^1$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, para cada tipo de óleo, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; <sup>1</sup>Concentração que inibiu totalmente o crescimento micelial do patógeno.

Os óleos de erva-cidreira e hortelã-pimenta só inibiram o crescimento de *C. graminicola* nas concentrações mais altas (C<sub>4</sub> e C<sub>5</sub>). Corroborando com o observado nesse estudo, Tagami et al. (2009) avaliando diferentes concentrações de extrato bruto aquoso de erva-cidreira, observaram redução de até 97% do crescimento micelial de *C. graminicola*. Combrinck et al. (2011) observaram efeito fungitóxico do óleo essencial de hortelã-pimenta sobre outra espécie de *Colletotrichum* (*C. gloeosporioides*).

A Tabela 3 traz o diâmetro médio micelial (mm) do fitopatógeno *Helminthosporium* sp. quando submetido aos óleos essenciais. Sob os óleos de capim-limão e citronela, *Helminthosporium* sp. apresentou crescimento apenas nas concentrações C<sub>1</sub> e C<sub>2</sub>. Sob os óleos de erva-cidreira e hortelã-pimenta, o patógeno apresentou crescimento em todas as doses avaliadas (Tabela 3). Após 10 dias de incubação somente as concentrações  $\geq C_2$  (0,50  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ) e  $\geq C_3$  (0,75  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ) dos óleos essenciais de erva-cidreira e hortelã-pimenta, respectivamente, reduziram de forma significativa o diâmetro micelial do *Helminthosporium* sp. (Tabela 3).

Estudos comprovam a eficiência do uso de óleos essenciais sobre o desenvolvimento de fungos da espécie *Helminthosporium*. Salgado et al. (2003) observaram redução significativa do fungo *Bipolaris sorokiniana* (sin. *H. sorokiniana*) pelo óleo essencial de eucalipto (*Eucalyptus urophylla*). O óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) reduziu o crescimento micelial de *B. oryzae* (sin. *H. oryzae*) (Zanandrea et al., 2004). Inibição total do desenvolvimento do *B. sorokiniana* (sin. *H. sorokiniana*) foi observado por Zacaroni et al. (2009).

**Tabela 3.** Diâmetro médio micelial (mm) de *Helminthosporium* sp. sob cinco concentrações (C<sub>1</sub>= 0,25  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ; C<sub>2</sub>= 0,50  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ; C<sub>3</sub>= 0,75  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ; C<sub>4</sub>= 1,0  $\mu\text{L mL}^{-1}$  e C<sub>5</sub>= 1,25  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ) dos óleos essenciais de capim-limão, citronela, erva-cidreira e hortelã-pimenta, em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação).

Concentração	Épocas de avaliação (dias de incubação)				
	2	4	6	8	10
	Capim-limão				
Test	24,46a	58,58a	80,94a	84,00a	84,00a
C <sub>1</sub>	0,00b	2,63b	19,04b	38,86b	62,94b
C <sub>2</sub>	0,00b	0,00b	0,00c	0,00c	16,31c
C <sub>3</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

C <sub>4</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C <sub>5</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Citronela					
Test	24,46a	58,58a	80,94a	84,00a	84,00a
C <sub>1</sub>	0,00b	11,51b	25,67b	42,19b	55,49b
C <sub>2</sub>	0,00b	0,73c	8,52c	19,41c	31,80c
C <sub>3</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C <sub>4</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C <sub>5</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Erva-cidreira					
Test	24,46a	58,58a	80,94a	84,00a	84,00a
C <sub>1</sub>	5,48b	23,47b	44,60b	65,30b	79,07a
C <sub>2</sub>	0,00b	3,12c	14,00c	28,05c	45,03b
C <sub>3</sub>	0,00b	0,00c	3,23d	12,33d	23,12c
C <sub>4</sub>	0,00b	0,00c	0,00d	4,85de	13,60d
C <sub>5</sub>	0,00b	0,00c	0,00d	1,41e	6,04d
Hortelã-pimenta					
Test	24,46a	58,58a	80,94a	84,00a	84,00a
C <sub>1</sub>	5,80b	24,35b	47,71b	70,21b	79,21a
C <sub>2</sub>	0,00b	12,16c	33,41c	60,40b	78,80a
C <sub>3</sub>	0,00b	1,13d	7,04d	22,82c	48,57b
C <sub>4</sub>	0,00b	0,00d	0,31d	6,83d	17,86c
C <sub>5</sub>	0,00b	0,00d	0,00d	1,74d	9,85c

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, para cada tipo de óleo, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; <sup>1</sup>Concentração que inibiu totalmente o crescimento micelial do patógeno.

A Tabela 4 apresenta o diâmetro micelial do fungo *P. grisea* sob as concentrações dos óleos essenciais. O patógeno apresentou crescimento micelial, sob o óleo essencial de capim-limão, apenas quando submetido à concentração C<sub>1</sub>. Sob o óleo essencial de citronela, o patógeno apresentou desenvolvimento nas concentrações C<sub>1</sub> e C<sub>2</sub> (Tabela 4).

A fungitoxicidade do óleo essencial de capim-limão foi verificada por Fiori et al. (2000). Os autores observaram total inibição do desenvolvimento do fungo *Didymella bryoniae*, quando submetido a dose de 20 µL do óleo. Medice et al. (2007), avaliando o efeito fungitóxico do óleo essencial de citronela, observaram total inibição da germinação de urediniosporos do fungo *Phakopsora pachyrhizi*.

**Tabela 4.** Diâmetro médio micelial (mm) de *Pyricularia grisea* sob cinco concentrações (C<sub>1</sub>= 0,25 µL mL<sup>-1</sup>; C<sub>2</sub>= 0,50 µL mL<sup>-1</sup>; C<sub>3</sub>= 0,75 µL mL<sup>-1</sup>; C<sub>4</sub>= 1,0 µL mL<sup>-1</sup> e C<sub>5</sub>= 1,25 µL mL<sup>-1</sup>) dos óleos essenciais de capim-limão, citronela, erva-cidreira e hortelã-pimenta, em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação).

Concentração	Épocas de avaliação (dias de incubação)				
	2	4	6	8	10
Capim-limão					
Test	6,71a	21,80a	35,88a	49,15a	63,48a
C <sub>1</sub>	0,00b	7,38b	17,83b	27,22b	37,58b
C <sub>2</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C <sub>3</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C <sub>4</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C <sub>5</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Citronela					
Test	6,71a	21,80a	35,88a	49,15a	63,48a
C <sub>1</sub>	1,36a	13,82b	35,88b	39,57b	53,34b
C <sub>2</sub>	0,00a	7,53b	16,75c	25,72c	35,89c
C <sub>3</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C <sub>4</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C <sub>5</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Erva-cidreira					
Test	6,71a	21,80a	35,88a	49,15a	63,48a
C <sub>1</sub>	4,41a	17,00b	29,92b	42,62b	56,41b
C <sub>2</sub>	0,00b	3,88c	15,04c	27,24c	41,31c
C <sub>3</sub>	0,00b	0,53c	8,86d	19,17d	32,04d
C <sub>4</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C <sub>5</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Hortelã-pimenta					
Test	6,71a	21,80a	35,88a	49,15a	63,48a
C <sub>1</sub>	0,48b	10,31b	22,18b	32,72b	44,01b
C <sub>2</sub>	0,00b	0,00c	9,18c	19,46c	31,78c
C <sub>3</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C <sub>4</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C <sub>5</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, para cada óleo, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; <sup>1</sup>Concentração que inibiu totalmente o crescimento micelial do patógeno.

Quando submetido às concentrações C<sub>4</sub> e C<sub>5</sub> do óleo essencial de erva-cidreira e C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> e C<sub>5</sub> do óleo de hortelã-pimenta, *P. grisea* não apresentou nenhum desenvolvimento (Tabela 4).

Propriedades antimicrobianas de óleos essenciais de outras espécies de *Lippia* são bem conhecidas. O óleo essencial de *L. scaberrina* reduziu em até 86% o crescimento micelial de *Botryosphaeria parva* (Regnier et al., 2008). Hussain et al. (2010) observaram excelente ação fungitóxica do óleo essencial de hortelã-pimenta sobre o desenvolvimento dos fitopatógenos *Fusarium solani*, *Rhizopus solani*, *Alternaria solani*, *A. alternata*, *Rhizopus* sp., *Aspergillus flavus* e *A. niger*.

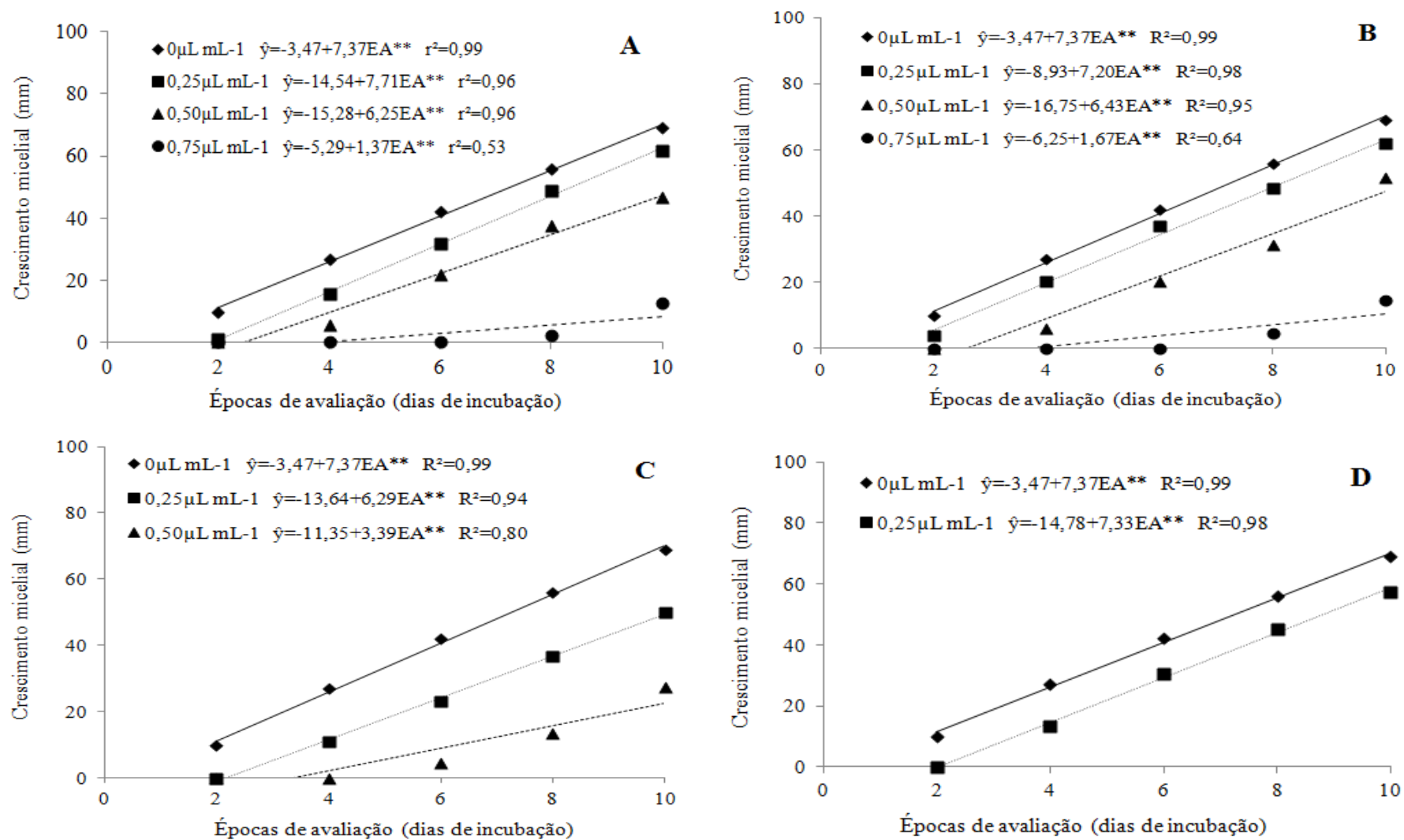
A Figura 1 mostra a estimativa do crescimento micelial de *C. graminicola*. As concentrações 0,50 e 0,75  $\mu\text{L mL}^{-1}$  do óleo essencial de hortelã-pimenta diminuíram o crescimento micelial do fungo de 7,37 mm dia<sup>-1</sup> (testemunha) para 6,25 e 1,37 mm dia<sup>-1</sup>, respectivamente (Figura 1A).

Sob 0,75  $\mu\text{L mL}^{-1}$  do óleo essencial de erva-cidreira, o crescimento micelial de *C. graminicola* foi de 1,67 mm dia<sup>-1</sup> (Figura 1B), atingindo na última avaliação um diâmetro de 10,45 mm. Tamanho 85% menor que o atingido na concentração de 0  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , em que o diâmetro micelial final foi de 70,23 mm.

As concentrações de 0,25 e 0,50  $\mu\text{L mL}^{-1}$  do óleo essencial de citronela reduziram a taxa de crescimento diária de *C. graminicola* de 7,37 mm para 6,29 e 3,39 mm, respectivamente (Figura 1C).

A redução da taxa de crescimento micelial do fungo submetido à concentração 0,25  $\mu\text{L mL}^{-1}$  do óleo de capim-limão foi pequena (7,33 mm dia<sup>-1</sup>) quando comparada aquele submetido a 0  $\mu\text{L mL}^{-1}$  (7,37 mm dia<sup>-1</sup>) (Figura 1D). Porém, ressalta-se que essa pequena concentração do óleo retardou o crescimento de *C. graminicola*, pois o fungo só apresentou desenvolvimento após quatro dias de incubação (Tabela 2).

Diferentes estudos mostram a eficiência de extratos e óleos essenciais na redução do desenvolvimento de outras espécies de *Colletotrichum*. Anaruma et al. (2010) observaram redução significativa do crescimento micelial do patógeno *C. gloeosporioides* pelos óleos essenciais de capim-limão, erva-cidreira e hortelã-pimenta. Extrato aquoso de melão-de-são-caetano (*Mormodica charantia*) reduziu em até 71% o crescimento de *C. musae* (Celoto et al., 2011). Efeito fungitóxico de extrato metanólico de alfavaca (*Ocimum gratissimum*) sobre o fitopatógeno *C. lindemuthianum* foi observado por Pinto et al. (2010).



**Figura 1.** Crescimento micelial (mm) de *Colletotrichum graminicola* submetido a diferentes concentrações de óleos essenciais de hortelã-pimenta (A), erva-cidreira (B), citronela (C) e capim-limão (D). \*\*Significativo a 1% de probabilidade pelo teste “t”.

As estimativas do crescimento micelial do fungo *Helminthosporium* sp., sob as diferentes concentrações dos óleos essenciais de hortelã-pimenta, erva-cidreira, citronela e capim-limão, estão representadas na Figura 2.

Quando submetido ao óleo essencial de hortelã-pimenta (Figura 2A), as estimativas das taxas de crescimento do *Helminthosporium* sp. sob as concentrações 0,25 e 0,50  $\mu\text{L mL}^{-1}$  foram de 9,59 e 10,33  $\text{mm dia}^{-1}$ , respectivamente. Mesmo sendo maiores que a taxa de crescimento obtida na concentração de 0  $\mu\text{L mL}^{-1}$  (7,22  $\text{mm dia}^{-1}$ ), os diâmetros miceliais do fungo na última avaliação foram menores. Isso porque houve um retardamento do desenvolvimento do patógeno. Sob 0,50  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , só foi observado crescimento do *Helminthosporium* sp. após quatro dias de incubação (Tabela 3).

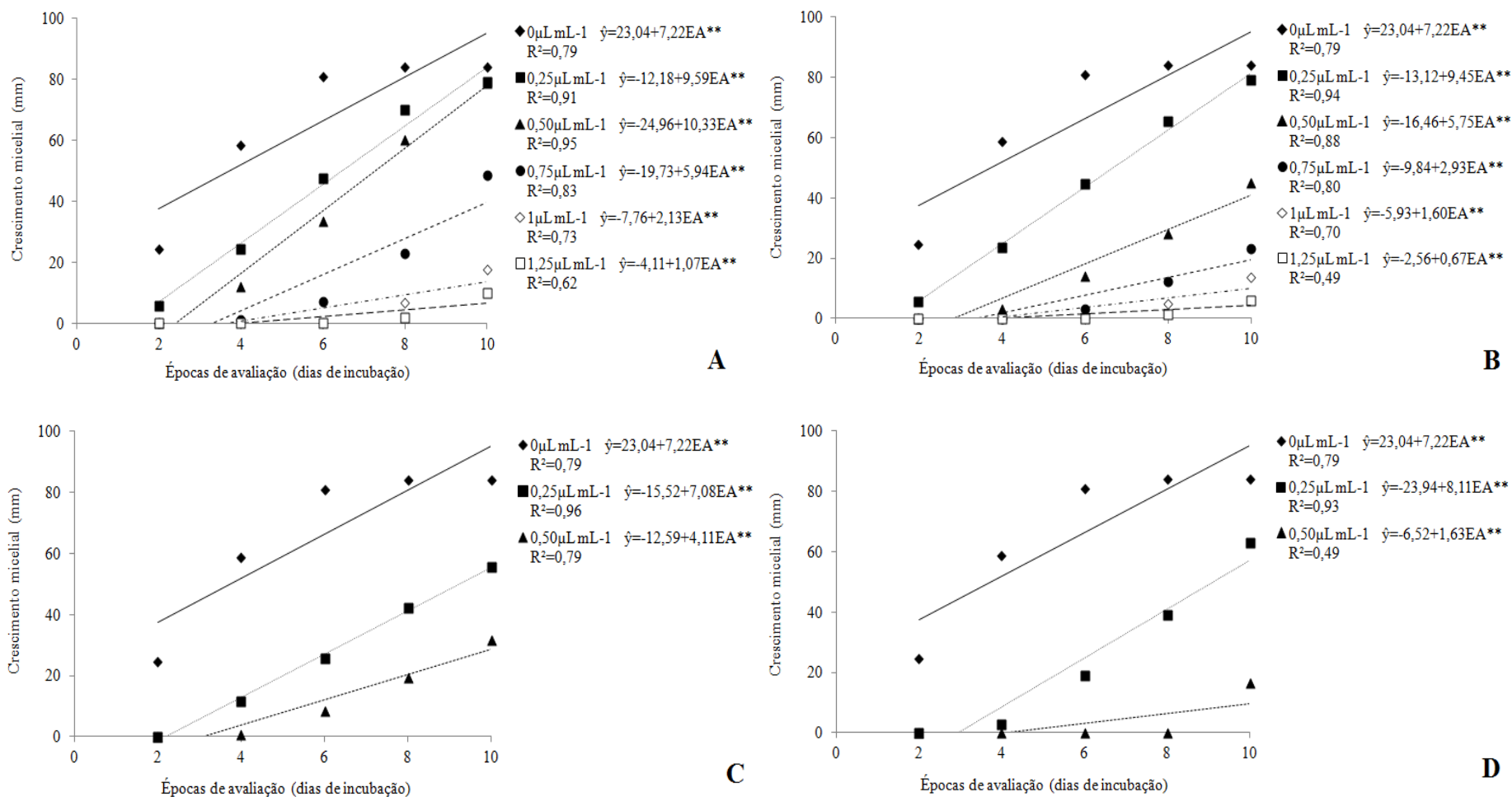
O menor taxa de crescimento micelial diário observado quando *Helminthosporium* sp. foi submetido ao óleo essencial de erva-cidreira (Figura 2B) foi de 0,67  $\text{mm dia}^{-1}$ , na concentração de 1,25  $\mu\text{L mL}^{-1}$ . Essa taxa de crescimento proporcionou ao fungo, após 10 dias de incubação, um diâmetro micelial de 4,14 mm, tamanho 95,6% menor que o obtido, na mesma avaliação, na concentração de 0  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , em que o diâmetro micelial foi de 94,24 mm.

O óleo essencial de citronela reduziu a taxa de crescimento de *Helminthosporium* sp. (Figura 2C) e retardou seu desenvolvimento. Sob as concentrações 0,25 e 0,50  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , o fungo apresentou taxa de crescimento de 7,08 e 4,11  $\text{mm dia}^{-1}$ , respectivamente. Só foi observado desenvolvimento do patógeno, sob essas concentrações, na segunda avaliação, após quatro dias de incubação (Tabela 3).

A concentração 0,50  $\mu\text{L mL}^{-1}$  do óleo de capim-limão reduziu o crescimento micelial diário de *Helminthosporium* sp. de 7,22  $\text{mm dia}^{-1}$  (0  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ) para 1,63  $\text{mm dia}^{-1}$  (Figura 2D).

De acordo com Costa et al. (2011), a atividade antifúngica de óleos essenciais está relacionada com sua hidrofobicidade. Essa característica permite uma interação entre o óleo essencial e os lipídeos da parede, membrana celular e mitocôndrias. Essa interação altera a permeabilidade e causa distúrbios nestas estruturas.

Soylu et al. (2010) observaram alterações morfológicas nas hifas de *Botrytis cinerea* quando tratadas com óleo essencial de orégano. Esse óleo causou perda de citoplasma e ruptura da estrutura celular do fungo *Aspergillus parasiticus* (Mitchell et al., 2010). Rassoli et al. (2006) observaram rompimento e destruição da membrana plasmática e mitocondrial de *A. niger* sob os óleos essenciais de *Thymus eriocalyx* e *T. x-porlock*.



**Figura 2.** Crescimento micelial (mm) de *Helminthosporium* sp. submetido a diferentes concentrações de óleos essenciais de hortelã-pimenta (A), erva-cidreira (B), citronela (C) e capim-limão (D). \*\*Significativo a 1% de probabilidade pelo teste “t”.

A Figura 3 mostra as estimativas do crescimento micelial do fungo *P. grisea* sob as diferentes concentrações dos óleos essenciais de hortelã-pimenta, erva-cidreira, citronela e capim-limão. Observando essas taxas de crescimento concluiu-se que quanto maior a concentração desses óleos essenciais, menor a taxa de crescimento de *P. grisea*.

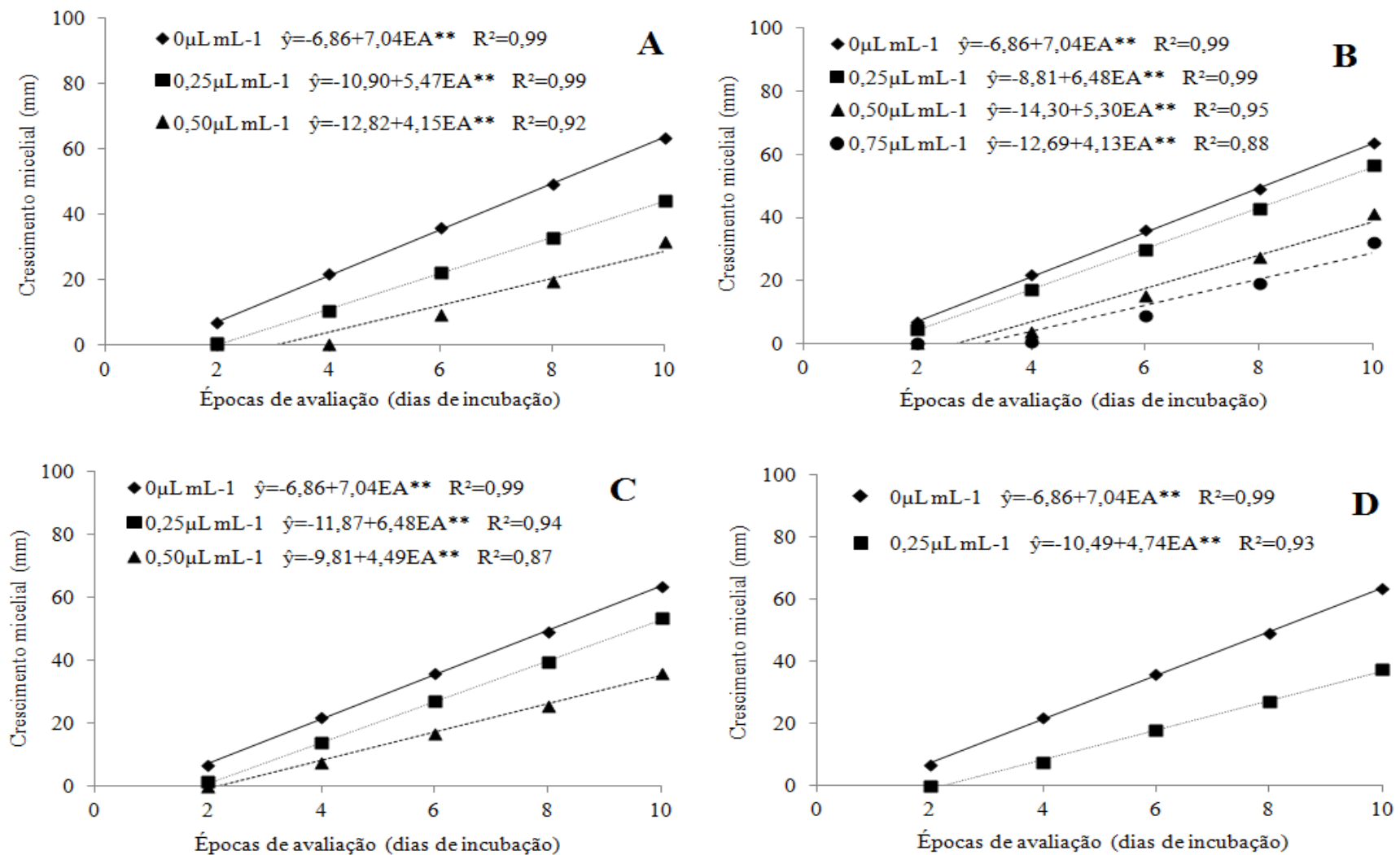
Quando submetido a  $0,50 \mu\text{L mL}^{-1}$  do óleo essencial de hortelã-pimenta (Figura 3A), *P. grisea* apresentou crescimento micelial diário de 4,15 mm, atingindo após 10 dias de incubação 28,68 mm de diâmetro micelial. Pereira et al. (2006) avaliando o efeito do óleo essencial de hortelã-pimenta sobre o crescimento de *Aspergillus niger* e *A. flavus*, observaram redução significativa do crescimento micelial dos patógenos.

A concentração de  $0,75 \mu\text{L mL}^{-1}$  do óleo de erva-cidreira retardou o desenvolvimento de *P. grisea* e reduziu sua taxa de crescimento diário de  $7,04 \text{ mm dia}^{-1}$  para  $4,13 \text{ mm dia}^{-1}$  (Figura 3B). Sob esta concentração, só foi observado desenvolvimento do fungo após seis dias de incubação (Tabela 4). Essa ação fungitóxica comprovada, não somente neste estudo, é uma das causas de indicação do óleo essencial de erva-cidreira para as indústrias agro-químicas (Yamamoto et al., 2008). O citral é o principal constituinte químico de interesse no óleo dessa planta (Barbosa et al., 2006).

Sob o óleo essencial de citronela, *P. grisea* apresentou crescimento micelial de  $4,49 \text{ mm dia}^{-1}$  quando submetido a  $0,50 \mu\text{L mL}^{-1}$  do óleo (Figura 3C). É importante ressaltar que sob o efeito dessa concentração, o fungo apresentou crescimento micelial somente após quatro dias de incubação (Tabela 4). Perini (2008) observou inibição total do crescimento *in vitro* de *P. grisea* sob diferentes concentrações do óleo essencial de citronela.

O óleo essencial de capim-limão foi o mais eficiente na inibição do desenvolvimento do fitopatógeno *P. grisea*. O fungo apresentou crescimento sob  $0,25 \mu\text{L mL}^{-1}$  do óleo essencial e somente após quatro dias de incubação foi observado seu desenvolvimento. A taxa de crescimento micelial foi  $4,74 \text{ mm dia}^{-1}$  e seu diâmetro micelial na última avaliação, após dez dias de incubação, foi de 36,91 mm, diâmetro 41,9% menor que o obtido sob a concentração de  $0 \mu\text{L mL}^{-1}$ .

Itako et al. (2009) observaram redução de até 40,67% do crescimento micelial de *Cladosporium fulvum* sob extrato bruto aquoso de capim-limão. Redução de até 100% do crescimento micelial de *C. coffeicola* pela ação do óleo essencial de capim-limão foi observado por Pereira et al. (2011).



**Figura 3.** Crescimento micelial (mm) de *Pyricularia grisea* submetido a diferentes concentrações de óleos essenciais de hortelã-pimenta (A), erva-cidreira (B), citronela (C) e capim-limão (D). \*\*Significativo a 1% de probabilidade pelo teste “t”.

A maioria dos óleos essenciais possuem algum grau de atividade antimicrobiana. Essa atividade é atribuída à presença dos compostos fenólicos e terpenóides que compoem sua estrutura (Gilles et al., 2010). Esses compostos, avaliados em sua forma pura, mostram ação antimicrobiana em diferentes estudos (Regnier et al., 2008; Dan et al., 2010; Hussain et al., 2010; Combrinck et al., 2011).

Bakkali et al. (2008), em uma revisão das propriedades antimicrobianas de óleos essenciais, destacaram que devido sua característica lipofítica, os óleos essenciais passam pela parede celular e membrana plasmática, podendo afetar suas estruturas. Essa propriedade citotóxica dos óleos essenciais é muito importante na aplicação desses extratos vegetais na agricultura, uma vez que podem ser eficazes no controle de fitopatógenos.

Por meio dos resultados obtidos, ressalta-se que o mesmo óleo essencial, aplicado na mesma dose, apresenta fungitoxicidade diferente entre os patógenos. O óleo essencial de erva-cidreira, por exemplo, na concentração de  $1\mu\text{L mL}^{-1}$  inibiu o desenvolvimento dos fungos *P. grisea* e *C. graminicola*, mas para o patógeno *Helminthosporium* sp. nenhuma das doses aplicadas inibiu o crescimento micelial. Conforme a fungitoxicidade dos óleos essenciais avaliados, conclui-se que os óleos essenciais de capim-limão (*C. citratus*) e citronela (*C. nardus*) apresentaram grande potencial para o controle dos fungos *C. graminicola*, *Heminthosporium* sp. e *P. grisea*, uma vez que doses pequenas reduziram significativamente o crescimento micelial diário desses patógenos.

## REFERÊNCIAS

ANARUMA, N. D.; SCHMIDT, F. L.; DUARTE, M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; DELARMELINA, C.; BENATO, E. A.; SATORATTO, A. Control of *Colletotrichum gloeosporioides* (penz.) Sacc. in yellow passion fruit using *Cymbopogon citratus* essential oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, p. 66-73, 2010.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p.446–475, 2008.

BARBOSA, F. F.; BARBOSA, L. C. A.; MELO, E. C.; BOTELHO, F. M.; SANTOS, R. H. S. Influência da temperatura do ar de secagem sobre o teor e a composição química do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1221-1225, 2006.

BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, P. S. B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 5, p. 555-557, 2004.

CARNELOSSI, P. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; MESQUINI, R. M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 399-406, 2009.

CARVALHO, J. B.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; BONALDO, S. M.; CRUZ, M. E. S.; CARLOS, M. M.; STANGARLIN, J. R. Fungitoxicidade de *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon martinii* a *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de pimentão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 10, n. 1, p. 88-93, 2008.

CASTRO, H. G.; PERINI, V. B. M.; SANTOS, G. R.; LEAL, T. C. A. B. Avaliação do teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.) em diferentes épocas de colheita. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 2 p. 308-314, 2010.

CELOTO, M. I. B.; PAPA, M. F. S.; SACRAMENTO, L. V. S.; CELOTO, F. J. Atividade antifúngica de extratos de *Momordica charantia* L. sobre *Colletotrichum musae*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n. 3, p. 337-341, 2011.

COMBRINCK, S.; REGNIER, T.; KAMATOU, G.P.P. In vitro activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. **Industrial Crops and Products**, v. 33, p. 344-349, 2011.

COSTA, A. R. T.; AMARAL, M. F. Z. J.; MARTINS, P. M.; PAULA, J. A. M.; FIUZA, T. S.; RESVENZOL, L. M. F.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Ação do óleo essencial de

*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 2, p. 240-245, 2011.

COSTA, R. V.; CASELA, C. R.; ZAMBOLIM, L.; FERREIRA, A. S. A antracnose do sorgo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 345-354, 2003.

DAN, Y.; LIU, H. Y.; GAO, W. W.; CHEN, S. L. Activities of essential oils from *Asarum heterotropoides* var. *mandshuricum* against five phytopathogens. **Crop Protection**, v. 29, p. 295-299, 2010.

FIORI, A. C. G.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; SCAPIM, C. A.; CRUZ, M. E. S.; PASCHOLATI, S. F. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. **Journal of Phytopathology**, 148, p. 483-487, 2000.

GODOY, C. V.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Alterações na fotossíntese e na transpiração de folhas de milho infectadas por *Phaeosphaeria maydis*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 209-213, 2001.

GILLES, M.; ZHAO, J.; AN, M.; AGBOOLA, S. Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian *Eucalyptus* species. **Food Chemistry**, v. 119, p. 731-737, 2010.

GUIMARÃES, L. G. L.; CARDOSO, M. G.; SOUSA, P. E.; ANDRADE, J.; VIEIRA, S. S. Atividades antioxidante e fungitóxica do óleo essencial de capim-limão e do citral. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 464-472, 2011.

HUSSAIN, A.; ANWAR, F.; NIGAM, P. S.; ASHRAF, M.; GILANI, A. H. Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, p. 1827-1836, 2010.

ITAKO, A. T.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; TOLENTINO JÚNIOR, J. B.; SILVA CRUZ, M. E. Controle de *Cladosporium fulvum* em tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 1, p. 75-83, 2009.

LOBO, V. L. S. Efeito do tratamento químico de sementes de arroz no controle da brusone nas folhas e na qualidade sanitária e fisiológica das sementes. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n. 2, p.162-166, 2008.

MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R. T.; JUNIOR, R. G. M.; LOPES, E. A. G. L. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *phakopsora pachyrhizi* syd. & p. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 83-90, 2007.

MITCHELL, T. C.; STAMFORD, T. L. M.; SOUZA, E. L.; LIMA, E. O.; CARMOS, E. S. *Origanum vulgare* L. essential oil as inhibitor of potentially toxigenic *Aspergillus*. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 3, p. 755-760, 2010.

MOREIRA, C. G. A.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; BONALDO, S. M.; STANGARLIN, S. M.; CRUZ, M. E. S. Caracterização parcial de frações obtidas de extratos de *Cymbopogon nardus* com atividade elicitora de fitoalexinas em sorgo e soja e efeito sobre *Colletotrichum lagenarium*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, n. 4, p. 332-337, 2008.

OLIVEIRA, M. M. M.; BRUGNERA, D. F.; CARDOSO, M. G.; GUIMARÃES, L. G. L.; PICCOLI, R. H. Rendimento, composição química e atividade antilisterial de óleos essenciais de espécies de *Cymbopogon*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n. 1, p. 8-16, 2011.

PEREIRA, M. C.; VILELA, G. R.; COSTA, L. M. A. S.; SILVA, R. F.; FERNANDES, A. F.; FONSECA, E. W. N.; PICCOLI, R. H. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 731-738, 2006.

PEREIRA, R. B.; LUCAS, G. C.; PERINA, F. J.; RESENDE, M. L. V.; ALVES, E. Potential of essential oils for the control of brown eye spot in coffee plants. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 1, p. 115-123, 2011.

PERINI, V. B. M. **Análise do óleo essencial, produção de biomassa e fungitoxicidade do capim citronela (*Cymbopogon nardus*)**. 2008. 100 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Universidade Federal de Tocantins, Gurupi, 2008.

PINTO, J. M. A.; SOUZA, E. A.; OLIVEIRA, D. F. Use of plant extracts in the control of common bean anthracnose. **Crop Protection**, v. 29, p. 838-842, 2010.

PRABHU, A.; FILIPPI, M. C.; ARAUJO, L. G.; FARIA, J. C. Genetic and phenotypic characterization of isolates of *Pyricularia grisea* from the rice cultivars EPAGRI 108 and 109 in the state of Tocantins. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 6, p. 566-573, 2002.

RASOOLI, I.; REZAEI, M. B.; ALLAMEH, A. Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus x-porlock*. **Food Control**, v. 17, p. 359-364, 2006.

REGNIER, T.; PLOOY, W.; COMBRINCK, S.; BOTHA, B. Fungitoxicity of *Lippia scaberrima* essential oil and selected terpenoid components on two mango postharvest spoilage pathogens. **Postharvest Biology and Technology**, v. 48, p. 254-258, 2008.

RIBEIRO JÚNIOR, J. I.; MELO, A. L. P. **Guia Prático para Utilização do SAEG**. Viçosa: UFV, 2008. 288p.

SALGADO, A. P. S. P.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; SOUZA, J. P.; ABREU, C. M. P.; PINTO, J. E. B. P. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 2, p. 249-254, 2003.

SCAPIN, C. R.; CARNELOSSI, P. R.; VIEIRA, R. A.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M.E.S. Fungitoxicidade in vitro de extratos vegetais sobre *Exserohilum turcicum* (Pass.)

Leonard & Suggs. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 1, p. 57-61, 2010.

SILVA, A. C.; SALES, N. L. P.; ARAÚJO, A. V.; CALDEIRA JÚNIOR, C. F. Efeito *in vitro* de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. isolado do maracujazeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. esp., p. 1853 -1860, 2009

SOUZA JÚNIOR, I. T.; SALES, N. L. P.; MARTINS, E. R. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. **Revista Biotemas**, v. 22, n.3, p. 77-83, 2009.

SOYLU, E. M.; KURT, S.; SOYLU, S. In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 143, p. 183-189, 2010.

TAGAMI, O. K.; GASPARIN, M. D.; SCHWAN-ESTRADA, K, R, F.; SILVA CRUZ, M. E.; ITAKO, A. T.; TOLENTINO JÚNIOR, J. B.; MORAES, L. M.; STANGARLIN, J. R. Fungitoxidade de *Bidens pilosa*, *Thymus vulgaris*, *Lippia alba* e *Rosmarinus officinalis* no desenvolvimento *in vitro* de fungos fitopatogênicos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 285-294, 2009.

TIAN, J.; BAN, X.; ZENG, H.; HUANG, B.; HE, J.; WANG, Y. *In vitro* and *in vivo* activity of essential oil from dill (*Anethum graveolens* L.) against fungal spoilage of cherry tomatoes. **Food Control**, v. 22, p. 1992-1999, 2011.

TYAGI, A. K.; MALIK, A. Antimicrobial potential and chemical composition of *Eucalyptus globulus* oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms. **Food Chemistry**, v. 126, p. 228-235, 2011a.

TYAGI, A. K.; MALIK, A. Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. **Food Control**, v. 22, p. 1707-1714, 2011b.

URASHIMA, A. S.; LEITE, S. F.; GALBIERI, R. Eficiência da disseminação aérea em *Pyricularia grisea*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 3, p. 275-279, 2007.

YAMAMOTO, P. Y.; COLOMBO, C. A.; AZEVEDO FILHO, J. A.; LOURENÇÃO, A. L.; MARQUES, M. O. M.; MORAIS, G. D. S.; CHIORATO, A. F.; MARTINS, A. L. M.; SIQUEIRA, W. J. Performance of ginger grass (*Lippia alba*) for traits related to the production of essential oil. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, n. 5, p. 481-489, 2008.

ZACARONI, L. M.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; PIMENTEL, F. A.; GUIMARÃES, L. G. L.; SALGADO, A. S. P. Potencial fungitóxico do óleo essencial de *Piper hispidinervum* (pimenta longa) sobre os fungos fitopatogênicos *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Amazônica**, v. 39, n. 1, p. 193-198, 2009.

ZANANDREA, L.; JULIANO, D. S.; ANDRÉA, B. M.; JULIANE, L.; VERIDIANA, K. B. Atividade do óleo essencial de orégano contra fungos patogênicos do arroz: crescimentos micelial em placas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, supl. 01, p. 14-16, 2004.

## CAPÍTULO IV

---

---

**Atividade antifúngica dos óleos essenciais de capim-limão, citronela, erva-cidreira e hortelã-pimenta sobre**

*Didymella bryoniae*, *Rhizoctonia solani* e

*Sclerotium rolfsii*.

**Atividade antifúngica dos óleos essenciais de capim-limão, citronela, erva-cidreira e hortelã-pimenta sobre *Didymella bryoniae*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*.**

Antifungal activity of essential oils of lemongrass, citronella, lemon balm and peppermint on *Didymella bryoniae*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*.

**RESUMO**

Os fungos *Didymella bryoniae*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii* são fitopatógenos de grandes impactos na agricultura. O controle de doenças está centralizado no uso de fungicidas sintéticos, mas a crescente exigência por produtos vegetais livres de contaminação de resíduos químicos tem incentivado a busca por métodos alternativos de controle. Óleos essenciais de plantas medicinais apresentam potencial de controle de fitopatógenos. Objetivou-se avaliar diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Cymbopogon citratus*, *C. nardus*, *Lippia alba* e *Mentha piperita* sobre os fungos *D. bryoniae*, *R. solani* e *S. rolfsii*. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial com quatro repetições, onde os fatores foram constituídos por cinco concentrações do óleo essencial ( $C_1 = 0,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_2 = 0,50 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_3 = 0,75 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_4 = 1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  e  $C_5 = 1,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) e testemunha, e por cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação). Todas as concentrações dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. nardus* inibiram o crescimento de *S. rolfsii*. O óleo essencial de *C. citratus* foi o mais eficiente na inibição do desenvolvimento de *D. bryoniae* e *R. solani*, uma vez que os fitopatógenos apresentaram crescimento somente na menor concentração ( $C_1$ ). O patógeno *D. bryoniae* apresentou menor taxa de crescimento micelial diário ( $3,59 \text{ mm dia}^{-1}$ ) sob a concentração de  $0,50 \mu\text{L mL}^{-1}$  ( $C_2$ ) do óleo essencial de *C. nardus*.

**Palavras-chave:** Plantas medicinais, Crescimento micelial e Controle alternativo.

## ABSTRACT

The *Didymella bryoniae*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* fungi are phytopathogen of great impacts to the agriculture. The diseases control is focused on the use of synthetic fungicides, however, the increasing demand for vegetable products free of chemical residues contamination has encouraged the searching for alternative methods of control. Essential oils of medicinal plants show potential to control phytopathogens. The purpose was to evaluate different concentrations of *Cymbopogon citratus*, *C. nardus*, *Lippia alba*, and *Mentha piperita* essential oils on the *D. bryoniae*, *R. solani*, and *S. rolfsii* fungi. We used a fully randomized design in factorial scheme with four replications, where the factors were composed of five concentrations of essential oil ( $C_1= 0,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_2= 0,50 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_3= 0,75 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_4= 1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ , and  $C_5= 1,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) and a witness, and for five evaluation periods (2, 4, 6, 8 and 10 days of incubation). All concentrations of *C. citratus* and *C. nardus* essential oils inhibited the growth of *S. rolfsii*. The *C. citratus* essential oil was the most effective in inhibiting the development of *D. bryoniae* and *R. solani*, since the phytopathogens grew only in the lowest concentration ( $C_1$ ). The *D. bryoniae* pathogen showed lower daily mycelial growth rate ( $3.59 \text{ mm day}^{-1}$ ) under the concentration of  $0.50 \mu\text{L mL}^{-1}$  ( $C_2$ ) of the *C. nardus* essential oil.

**Keywords:** Medicinal plants, Mycelial growth and Alternative control.

## INTRODUÇÃO

Doenças de plantas, provocadas por fungo fitopatogênicos, é um fator limitante na produção de diferentes culturas no mundo. O crestamento gomoso do caule, agente causal *Didymella bryoniae*, por exemplo, é uma doença de grande impacto na produção de curcubitáceas (Fessehaie et al., 2009). Santos et al. (2009) destaca essa doença como uma das principais do meloeiro (*Cucumis melo*), ocasionando redução da produtividade e da qualidade dos frutos.

Outro importante fitopatógeno é o *Sclerotium rolfsii*, um fungo habitante de solo. Considerado o agente da doença podridão-de-escleródio, é responsável pela podridão do colo e de raízes, murcha e tombamento de plântulas em uma extensa gama de espécies botânicas

(Martins et al., 2003; Serra & Silva, 2005). *Rhizoctonia solani* também apresenta uma ampla gama de hospedeiro e ocorre em todo o mundo, causando podridão de raízes e tombamento na maioria das plantas infectadas (Aboellil & Mohammed, 2011; Anitha & Arun Das, 2011).

Durante anos, as tentativas de prevenir, controlar e erradicar doenças de plantas estão centralizadas no uso de fungicidas sintéticos. Mesmo apresentando resultados satisfatórios, o uso repetido e continuado destes pesticidas perturba o equilíbrio dos ecossistemas, aumenta o surto de doenças e eleva a resistência dos patógenos aos compostos químicos aplicados (Lee et al., 2008). Atualmente, a crescente exigência por produtos vegetais de qualidade, livres de contaminação por resíduos químicos, incentiva a restrição do uso de agrotóxicos (Carvalho et al., 2008). Nesse contexto, métodos alternativos de manejo de doenças estão sendo buscados.

O uso de óleos essenciais de plantas apresenta potencial de controle de fitopatógenos. Silva & Bastos (2007) observaram total inibição do crescimento micelial de *Crinipellis pernicioso* quando submetido ao óleo essencial de *Piper callosum*. O óleo essencial de eucalipto (*Eucalyptus urophylla*) reduziu significativamente o desenvolvimento de *Bipolaris sorokiniana* (Salgado et al., 2003). Rasooli et al. (2006) observaram graves danos na parede, membrana e organelas celulares do fungo *Aspergillus niger* tratado com os óleos essenciais de *Thymus eriocalyx* e *T. x-porlock*. Inibição total do crescimento micelial de *Alternaria alternata* pelo óleo essencial de *Carum copticum* foi observada por Abdolahi et al., 2010.

Alguns estudos mostram a ação antimicrobiana dos óleos essenciais de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), citronela (*C. nardus*), erva-cidreira (*Lippia alba*) e hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) sobre o desenvolvimento de fungos fitopatogênicos. O óleo essencial de capim-limão reduziu significativamente o desenvolvimento de *Fusarium oxysporum cubense* (Guimarães et al., 2011). Medice et al. (2007) verificaram inibição da germinação de urediniosporos do fungo *Phakospora pachyrhizi*, agente causal da ferrugem asiática da soja, sob o óleo essencial de citronela. Rozwalka et al. (2008) observaram redução significativa no crescimento micelial de *Glomerella cingulata* tratada com o óleo essencial de erva-cidreira. Redução significativa no crescimento micelial *in vitro* de *Aspergillus niger* e *A. flavus* sob o tratamento com o óleo essencial de hortelã-pimenta foi verificada por Pereira et al. (2006).

Nesse contexto, objetivou-se avaliar diferentes concentrações dos óleos essenciais de capim-limão (*C. citratus*), citronela (*C. nardus*), erva-cidreira (*L. alba*) e hortelã-pimenta (*M. piperita*) sobre os fungos *D. bryoniae*, *R. solani* e *S. rolfsii*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitopatologia, na Universidade Federal do Tocantins, Campus de Gurupi, TO.

Os fungos fitopatogênicos *D. bryoniae*, *R. solani* e *S. rolfsii* foram repicados de culturas armazenadas na Coleção Micológica do Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal do Tocantins, Campus de Gurupi, TO.

Para a repicagem foram utilizadas placas de Petri de 90 x 15 mm com meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar), preparado com 250 g de batata, 20 g de dextrose e 20 g de ágar por litro de água. Foi acrescido 500 mg L<sup>-1</sup> de antibiótico Ampicilina para evitar contaminação por bactérias. Foram vertidos 20 mL de meio de cultura por placa de Petri. No centro da placa foi inoculado um disco de 6 mm de diâmetro de BDA contendo o material fúngico. As placas foram vedadas com filme plástico PVC, identificadas e incubadas à temperatura de 27 °C.

Para cada fungo e óleo essencial, foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos por cinco concentrações do óleo (C<sub>1</sub>= 0,25 µL mL<sup>-1</sup>; C<sub>2</sub>= 0,50 µL mL<sup>-1</sup>; C<sub>3</sub>= 0,75 µL mL<sup>-1</sup>; C<sub>4</sub>= 1,0 µL mL<sup>-1</sup> e C<sub>5</sub>= 1,25 µL mL<sup>-1</sup>) e testemunha, e por cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação).

Para obtenção dos óleos essenciais, folhas de citronela (*C. nardus*), capim-limão (*C. citratus*) e erva-cidreira (*L. alba*) foram desidratadas à temperatura ambiente. A extração foi realizada pelo método de hidrodestilação (Castro et al., 2010), utilizando o aparelho de Clevenger. Os sobrenadantes foram coletados e armazenados em frascos estéreis.

O óleo de hortelã-pimenta (*M. piperita*) (DOKMOS - Cosméticos®) foi adquirido no Mercado Municipal de Gurupi, TO.

Para verificar o efeito dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial dos fitopatógenos, os óleos foram distribuídos na superfície do meio de cultura com auxílio de uma alça tipo Drigalsky. Após a distribuição, um disco de 6 mm de diâmetro de BDA contendo micélio do fungo foi colocado no centro das placas. As placas foram vedadas com filme plástico PVC, identificadas e incubadas à temperatura de 27 °C.

Foram realizadas cinco avaliações (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação) por medições do diâmetro micelial (média de duas medidas diametralmente opostas), utilizando-se um paquímetro digital.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e regressão. No fator qualitativo, as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, e no fator quantitativo foram ajustadas equações de regressão com base no teste “t” dos coeficientes a 5% de probabilidade e no coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>). As análises foram realizadas por meio do sistema computacional SAEG (Ribeiro Júnior & Melo, 2008).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado da análise de variância (Tabela 1) revelou que as variações em função das concentrações, épocas de avaliação e a interação entre eles foram significativas a 1% de probabilidade para os fungos *R. solani* e *S. rolfsii* em todos os óleos avaliados. Para o fungo *D. bryoniae*, com exceção da interação entre as épocas de avaliação e concentrações do óleo essencial de capim limão que não foi significativa, todas as fontes de variação foram significativas a 1% de probabilidade para os óleos essenciais avaliados.

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância do crescimento micelial dos fungos *Didymella bryoniae*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii* submetidos a diferentes concentrações (Conc.) dos óleos essenciais de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), citronela (*Cymbopogon nardus*), erva-cidreira (*Lippia alba*) e hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) em diferentes épocas de avaliações (E. A.).

Fontes de variação	Capim-limão		Citronela		Erva-cidreira		Hortelã-pimenta	
	G.L. <sup>1</sup>	Q.M. <sup>2</sup>	G.L.	Q.M.	G.L.	Q.M.	G.L.	Q.M.
<i>Didymella bryoniae</i>								
E. A.	4	5302,98**	4	4488,68**	4	5496,46**	4	9729,27**
Conc.	1	7296,62**	2	12649,43**	3	13306,44**	3	8291,58**
E.A.xConc.	4	63,49 <sup>ns</sup>	8	316,61**	12	618,25**	12	343,21**
Resíduo	30	31,76	45	14,81	60	11,39	60	10,82
C.V.	12,06		11,80		10,64		8,75	
<i>Rhizoctonia solani</i>								
E. A.	-	-	4	3033,43**	4	4931,67**	4	3544,69**
Conc.	-	-	1	22529,07**	1	5548,62**	1	11843,92**
E.A.xConc.	-	-	4	1398,84**	4	2049,08**	4	1228,93**
Resíduo	-	-	30	14,97	30	1,07	30	21,63
C.V.	-		7,029		1,54		7,55	

<i>Sclerotium rolfsii</i>								
E. A.	-	-	-	-	4	4486,75**	4	4299,74**
Conc.	-	-	-	-	1	4778,05**	2	18654,34**
E.A.xConc.	-	-	-	-	4	382,71**	8	555,33**
Resíduo	-	-	-	-	30	14,58	45	96,04
C.V.	-	-	-	-		6,45		24,02

\*\*Significativo a 1% de probabilidade; \*Significativo a 5% de probabilidade; <sup>ns</sup>Não significativo; <sup>1</sup>G.L.: Graus de liberdade; <sup>2</sup>Q.M.: Quadrado Médio; <sup>3</sup>C.V.: Coeficiente de variação.

A Tabela 2 mostra o crescimento micelial do fungo *D. bryoniae* submetido a diferentes concentrações dos óleos essenciais de capim-limão (*C. citratus*), citronela (*C. nardus*), erva-cidreira (*L. alba*) e hortelã-pimenta (*M. piperita*).

Quando submetido ao óleo essencial de capim-limão, *D. bryoniae* não apresentou desenvolvimento a partir da concentração C<sub>2</sub>. A concentração C<sub>1</sub> reduziu a taxa de crescimento micelial para 7,92 mm dia<sup>-1</sup> (Tabela 2).

Fiori et al. (2000) avaliando o óleo essencial de capim-limão sobre o crescimento micelial de *D. bryoniae*, verificou total inibição do desenvolvimento do fungo sob a dose de 20 µL do óleo. Carnelossi et al. (2009) verificaram inibição de 100% do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* sob a dose de 10 µL do óleo essencial de capim-limão. Redução de 27% do crescimento micelial de *Exserohilum turcicum* por extrato bruto de folhas de capim-limão foi observado por Scapin et al. (2010).

As concentrações C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> e C<sub>5</sub> do óleo essencial de citronela inibiram totalmente o crescimento de *D. bryoniae* (Tabela 2). Sob as concentrações C<sub>1</sub> e C<sub>2</sub> a estimativa da taxa de crescimento micelial do patógeno foi de 6,60 e 3,59 mm dia<sup>-1</sup>, respectivamente, atingindo ao final dos 10 dias de incubação diâmetro micelial de 52,93 e 25,39 mm.

Pereira et al. (2011) observaram total inibição de *Cercospora coffeicola* pelo óleo essencial de citronela (*C. nardus*). Carvalho et al. (2008) observando a ação fungitóxica do extrato de *C. martinii*, outra espécie de *Cymbopogon*, verificaram redução do crescimento micelial e a esporulação de *Colletotrichum gloeosporioides*.

**Tabela 2.** Diâmetro médio micelial (mm) de *Didymella bryoniae* sob cinco concentrações (Conc.) ( $C_1= 0,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_2= 0,50 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_3= 0,75 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_4= 1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  e  $C_5= 1,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) dos óleos essenciais de capim-limão, citronela, erva-cidreira e hortelã-pimenta, em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação).

Conc.	Dias de incubação					Equação de regressão	R <sup>2</sup>
	2	4	6	8	10		
Capim-limão							
Test.	21,17a	46,28a	67,20a	82,53a	84,00a	$\hat{y}=11,66+8,09EA^{**}$	0,92
C <sub>1</sub>	1,26b	15,02b	36,09b	51,61b	62,13b	$\hat{y}=-14,28+7,92EA^{**}$	0,91
C <sub>2</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
C <sub>3</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
C <sub>4</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
C <sub>5</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
Citronela							
Test.	21,17a	46,28a	67,20a	82,53a	84,00a	$\hat{y}=11,66+8,09EA^{**}$	0,92
C <sub>1</sub>	1,08b	12,63b	25,80b	39,52b	53,64b	$\hat{y}=-13,07+6,60EA^{**}$	0,94
C <sub>2</sub>	0,00b	1,02c	8,98c	17,61c	27,64c	$\hat{y}=-10,51+3,59EA^{**}$	0,87
C <sub>3</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
C <sub>4</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
C <sub>5</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
Erva-cidreira							
Test.	21,17a	46,28a	67,20a	82,53a	84,00a	$\hat{y}=11,66+8,09EA^{**}$	0,92
C <sub>1</sub>	6,95b	27,10b	46,89b	62,80b	75,17b	$\hat{y}=-7,85+8,60EA^{**}$	0,96
C <sub>2</sub>	0,00c	6,84c	20,36c	34,79c	47,07c	$\hat{y}=-14,81+6,10EA^{**}$	0,95
C <sub>3</sub>	0,00c	0,00d	0,00d	0,23d	5,14d	$\hat{y}=-2,94+1,62EA^{*}+0,18EA^{**}$	0,50
C <sub>4</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
C <sub>5</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
Hortelã-pimenta							
Test.	21,17a	46,28a	67,20a	82,53a	84,00a	$\hat{y}=11,66+8,09EA^{**}$	0,92
C <sub>1</sub>	5,59b	28,18b	51,28b	66,66b	76,95b	$\hat{y}=-8,62+9,06EA^{**}$	0,97
C <sub>2</sub>	0,00b	9,90c	28,99c	47,97c	73,03c	$\hat{y}=-23,26+9,21EA^{**}$	0,97
C <sub>3</sub>	0,00b	0,00d	4,58d	18,80d	38,76d	$\hat{y}=-16,47+4,82EA^{**}$	0,78
C <sub>4</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
C <sub>5</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, para cada tipo de óleo, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; \*\* Significativo a 1% de probabilidade pelo teste “t”;

<sup>1</sup>Concentração que inibiu totalmente o crescimento micelial do patógeno.

Na concentração C<sub>2</sub> do óleo essencial de erva-cidreira, a taxa de crescimento de *D. bryoniae* foi de 6,10 mm dia<sup>-1</sup> e o fungo atingiu um diâmetro de 46,19 mm na última avaliação (Tabela 2). A erva-cidreira tem sido uma planta indicada para indústrias agroquímicas, posto que seu óleo essencial apresenta propriedades fungitóxicas e inseticidas comprovadas (Yamamoto et al., 2008).

Quando submetido ao óleo essencial de hortelã-pimenta, *D. bryoniae* não se desenvolveu nas concentrações C<sub>4</sub> (1 µL mL<sup>-1</sup>) e C<sub>5</sub> (1,25 µL mL<sup>-1</sup>). Sob a concentração C<sub>3</sub> do óleo essencial de hortelã-pimenta, *D. bryoniae* teve seu crescimento retardado, pois somente na terceira avaliação apresentou desenvolvimento, e a taxa de crescimento micelial diário foi reduzida, de 8,09 para 4,82 mm dia<sup>-1</sup> (Tabela 2).

Anaruma et al. (2010) avaliando o óleo essencial de diferentes plantas medicinais, observaram que a concentração mínima inibitória (MIC) do óleo de hortelã-pimenta (*M. piperita*) foi de 2 mg mL<sup>-1</sup> para o crescimento micelial de *C. gloeosporioides*. Combrinck et al. (2011) observaram 100% de inibição do desenvolvimento *in vitro* de *A. alternata* sob o óleo essencial de *M. piperita*.

A Tabela 3 mostra o desenvolvimento do fungo *R. solani* sob os óleos essenciais de citronela, erva-cidreira e hortelã-pimenta, uma vez que o patógeno não apresentou crescimento micelial quando foi submetido ao óleo de capim-limão. Combrinck et al. (2011) observaram redução de 100% do desenvolvimento de *Lasiodiplodia theobromae* tratado com óleo essencial de capim-limão.

Na testemunha (Tabela 3), *R. solani* apresentou crescimento micelial maior que nos tratamentos com óleos essenciais de citronela, erva-cidreira e hortelã-pimenta, cobrindo toda a superfície do meio de cultura na segunda época de avaliação. Isso explica a menor taxa de crescimento micelial diário do fungo, que foi de 2,61 mm dia<sup>-1</sup> (Tabela 3). Como toda a superfície da placa estava colonizada pelo patógeno no quarto dia da incubação, não houve mais espaço físico para seu crescimento.

Na concentração C<sub>1</sub> do óleo essencial de citronela, até a quarta avaliação, o diâmetro micelial de *R. solani* foi significativamente menor que a testemunha. Não houve diferença significativa entre os diâmetros miceliais do fungo sob o tratamento testemunha e a concentração C<sub>1</sub> do óleo essencial de erva-cidreira após 6 dias de incubação. Quando submetido ao óleo essencial de hortelã-pimenta, na última avaliação, os diâmetros miceliais do fungo sob a concentração C<sub>1</sub> e testemunha foram iguais (Tabela 3).

**Tabela 3.** Diâmetro médio micelial (mm) de *Rhizoctonia solani* sob cinco concentrações (Conc.) ( $C_1= 0,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_2= 0,50 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_3= 0,75 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_4= 1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  e  $C_5= 1,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) dos óleos essenciais de citronela, erva-cidreira e hortelã-pimenta, em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação).

Conc.	Dias de incubação					Equação de regressão	R <sup>2</sup>
	2	4	6	8	10		
Citronela							
Test.	57,90a	84,00a	84,00a	84,00a	84,00a	$\hat{y}=63,12+2,61EA^{**}$	0,50
C <sub>1</sub>	0,00b	10,47b	23,12b	44,40b	78,57a	$\hat{y}=-26,01+9,55EA^{**}$	0,91
C <sub>2</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
C <sub>3</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
C <sub>4</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
C <sub>5</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
Erva-cidreira							
Test.	57,90a	84,00a	84,00a	84,00a	84,00a	$\hat{y}=63,12+2,61EA^{**}$	0,50
C <sub>1</sub>	0,00b	24,67b	83,45a	84,00a	84,00a	$\hat{y}=-12,97+11,36EA^{**}$	0,80
C <sub>2</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
C <sub>3</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
C <sub>4</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
C <sub>5</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
Hortelã-pimenta							
Test.	57,90a	84,00a	84,00a	84,00a	84,00a	$\hat{y}=63,12+2,61EA^{**}$	0,50
C <sub>1</sub>	0,00b	28,77b	43,58b	65,48b	84,00a	$\hat{y}=-17,05+10,23EA^{**}$	0,95
C <sub>2</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
C <sub>3</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
C <sub>4</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
C <sub>5</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, para cada tipo de óleo, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; \*\* Significativo a 1% de probabilidade pelo teste “t”.

<sup>1</sup>Concentração que inibiu totalmente o crescimento micelial do patógeno.

Tagami et al. (2009) observaram redução do crescimento micelial de *R. solani* sob extrato bruto aquoso de erva-cidreira.

A ação de extratos e óleos essenciais sobre o desenvolvimento de *R. solani* é apresentada por outros estudos. Zanandrea et al. (2004) observaram redução no desenvolvimento do patógeno sob tratamento com o óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*). O crescimento micelial do patógeno, quando submetido a 1% do extrato de açafrão (*Curcuma longa*) foi reduzido em 61% (Amaral & Bara, 2005). Faria et al. (2006) observaram halo de inibição de até 41 mm do fungo sob o óleo essencial de alfavacão (*Ocimum gratissimum*). O óleo de nim comercial OleoNim 50 CE, na concentração de 25%, reduziu o crescimento de *R. solani* em 40% (Triana & González, 2009). Al-Reza et al. (2010) verificaram redução de 80% do crescimento micelial do fungo sob 1000 ppm do óleo essencial de dama-da-noite (*Cestrum nocturnum*). O óleo essencial de *O. gratissimum* inibiu totalmente o desenvolvimento *in vitro* de *R. solani* (Benine et al., 2010). Costa et al. (2011) observaram redução significativa do crescimento micelial do fitopatógeno tratado com o óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*). Dan et al. (2010) verificaram até 90% de inibição do desenvolvimento de *R. solani* sob o óleo essencial de ásaró (*Asarum heterotropoides var. mandshuricum*).

A Tabela 4 mostra o desenvolvimento de *S. rolfsii* quando submetido aos óleos essenciais de erva-cidreira e hortelã-pimenta, pois sob os óleos essenciais de capim-limão e citronela, o fungo não apresentou crescimento micelial. Benine et al. (2010) também observaram total inibição do crescimento micelial de *S. rolfsii* quando submetido ao óleo essencial de *O. gratissimum*.

O óleo essencial de citronela possui alto teor de geraniol e citronelal, o que confere ação repelente, fungicida e bactericida a planta (Castro et al., 2007). A ação fungitóxica de capim-limão é apresentada em outros estudos. Itako et al. (2008) observaram redução da esporulação e germinação de conídios de *Alternaria solani* sob concentração de 20% do extrato bruto aquoso de capim-limão. O crescimento micelial do fitopatógeno *Cladosporium fulvum* foi reduzido em até 40,67% pelo extrato de *C. citratus* (Itako et al, 2009).

Na testemunha, *S. rolfsii* apresentou maior crescimento micelial, cobrindo toda a superfície do meio de cultura na terceira avaliação (Tabela 4). Esse fato explica a taxa de crescimento micelial diário menor que aquelas submetidas aos óleos essenciais de erva-cidreira e hortelã-pimenta. Como a superfície da placa de Petri estava tomada pelo fungo, após os seis dias de incubação não houve mais espaço físico para seu crescimento micelial (Tabela 4).

**Tabela 4.** Diâmetro médio micelial (mm) de *Sclerotium rolfsii* sob cinco concentrações (Conc.) ( $C_1= 0,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_2= 0,50 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_3= 0,75 \mu\text{L mL}^{-1}$ ;  $C_4= 1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  e  $C_5= 1,25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) dos óleos essenciais de erva-cidreira e hortelã-pimenta, em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação).

Conc.	Dias de incubação					Equação de regressão	R <sup>2</sup>
	2	4	6	8	10		
Erva-cidreira							
Test.	37,90a	60,91a	84,00a	84,00a	84,00a	$\hat{y}=35,57+5,77EA^{**}$	0,78
C <sub>1</sub>	12,63b	30,66b	48,31b	65,92b	84,00a	$\hat{y}=-5,09+8,89EA^{**}$	0,97
C <sub>2</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
C <sub>3</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
C <sub>4</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
C <sub>5</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
Hortelã-pimenta							
Test.	37,90a	60,91a	84,00a	84,00a	84,00a	$\hat{y}=35,57+5,77EA^{**}$	0,78
C <sub>1</sub>	8,45b	24,87b	39,88b	61,22b	80,79a	$\hat{y}=-11,26+9,05EA^{**}$	0,96
C <sub>2</sub>	0,00b	1,82c	5,82c	13,41c	24,98b	$\hat{y}=\bar{x}=9,20$	-
C <sub>3</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
C <sub>4</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
C <sub>5</sub> <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, para cada tipo de óleo, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; \*\* Significativo a 1% de probabilidade pelo teste “t”.

<sup>1</sup>Concentração que inibiu totalmente o crescimento micelial do patógeno.

Sob a concentração C<sub>2</sub> do óleo de erva-cidreira, *S. rolfsii* apresentou menor diâmetro micelial até a quarta avaliação. Tagami et al. (2009) observaram redução de até 49% do crescimento micelial de *S. rolfsii* sob o extrato bruto aquoso de *L. alba* (erva-cidreira).

Os óleos essenciais de muitas espécies de *Lippia* são bem conhecidos por suas propriedades antimicrobianas. Efeito fungitóxico do óleo essencial de *L. scaberrina* foi observado no desenvolvimento de *Botryosphaeria parva* (Regnier et al., 2008). Souza-Júnior et al. (2009) observaram inibição de 100% da germinação de conídios e do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* sob a concentração de 1  $\mu\text{L mL}^{-1}$  do óleo essencial de *L. sidoides*.

Na concentração C<sub>2</sub> do óleo essencial de hortelã-pimenta, o patógeno teve seu desenvolvimento retardado, apresentando um pequeno crescimento após quatro dias de incubação e um diâmetro micelial significativamente menor que a testemunha em todas as avaliações (Tabela 4). Espécies de *Mentha* apresentam potencial fungitóxico. Diniz et al. (2008) observando a ação do óleo essencial de *Mentha arvensis* sob *Sclerotinia* sp, destacaram que 10 µL do óleo inibiu totalmente o desenvolvimento de *Sclerotinia* sp.

Outros trabalhos mostram a ação de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de *S. rolfsii*. Domingues et al. (2011) observaram redução significativa no crescimento micelial do fungo sob o tratamento de extrato vegetal de mangue-preto (*Avicennia schaueriana*). Extrato de tespésia (*Thespesia populnea* var. *acutiloba*) reduziu de 12 a 82% do desenvolvimento de *S. rolfsii* (Derbalah et al., 2011). Formighieri et al. (2010) observaram que o extrato de avenca (*Adiantum capillusveneris*) reduziu em 83% o crescimento micelial *in vitro* de *S. rolfsii*. Benine et al. (2010) verificaram inibição de até 100% do desenvolvimento de *S. rolfsii* sobre o tratamento de extrato bruto aquoso de alfavaca (*Ocimum gratissimum*).

Diante dos resultados obtidos neste estudo, conclui-se que os óleos essenciais de capim-limão e citronela apresentam alto potencial de controle para o fungo *Sclerotium rolfsii*, uma vez que todas as doses aplicadas inibiram totalmente o desenvolvimento do patógeno. O óleo de capim-limão também foi eficiente na inibição do crescimento de *Rhizoctonia solani*, apresentando uma alternativa aos fungicidas sintéticos.

## REFERÊNCIAS

ABDOLAH, A.; HASSANI, A.; GHOSTA, Y.; JAVADI, T.; MESHKATALSADAT, M. H. Essential oils as control agents of postharvest *Alternaria* and *Penicillium* rots on tomato fruits. **Journal of Food Safety**, v. 30, p. 341-352, 2010.

ABOELLIL, A. H.; MOHAMMED, N. M. Effect of some chemicals on growth, melanogenesis, pathogenicity and metabolic activities of *Rhizoctonia solani*. **Journal of Yeast and Fungal Research**, v. 2, n. 10, p. 143-152, 2011.

AL-REZA, S. M.; RAHMAN, A.; AHMED, Y.; KANG, S. C. Inhibition of plant pathogens in vitro and in vivo with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 96, p. 86-92, 2010.

AMARAL, M. F. Z. J.; BARA, M. T. F. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas sobre o crescimento de fitopatógenos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2, n. 2, p. 5-8, 2005.

ANARUMA, N. D.; SCHMIDT, F. L.; DUARTE, M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; DELARMELINA, C.; BENATO, E. A.; SATORATTO, A. Control of *Colletotrichum gloeosporioides* (penz.) Sacc. in yellow passion fruit using *Cymbopogon citratus* essential oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, p. 66-73, 2010.

ANITHA, A.; ARUN DAS, M. Activation of rice plant growth against *Rhizoctonia solani* using *Pseudomonas fluorescens*, *Trichoderma* and Salicylic Acid. **Research in Biotechnology**, v. 2, n. 4, p. 07-12, 2011.

BENINI, P. C.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; KLAIS, E. C.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; MESQUINE, R. M.; STANGARLIN, J. R.; TOLENTINO JÚNIOR, J. B. Efeito *in vitro* do óleo essencial e extrato aquoso de *Ocimum gratissimum* colhido nas quatro estações do ano sobre fitopatógenos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 4, p. 677-683, 2010.

CARNELOSSI, P. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; MESQUINI, R. M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 399-406, 2009.

CARVALHO, J. B.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; BONALDO, S. M.; CRUZ, M. E. S.; CARLOS, M. M.; STANGARLIN, J. R. Fungitoxicidade de *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon martinii* a *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de pimentão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 10, n. 1, p. 88-93, 2008.

CASTRO, H. G.; BARBOSA, L. C. A.; LEAL, T. C. A. B.; SOUZA, C. M.; NAZARENO, A.C. Crescimento, teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 9, n. 4, p. 55-61, 2007.

CASTRO, H. G.; PERINI, V. B. M.; SANTOS, G. R.; LEAL, T. C. A. B. Avaliação do teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.) em diferentes épocas de colheita. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 2 p. 308-314, 2010.

COMBRINCK, S.; REGNIER, T.; KAMATOU, G. P. P. *In vitro* activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. **Industrial Crops and Products**, v. 33, p. 344-349, 2011.

COSTA, A. R. T.; AMARAL, M. F. Z. J.; MARTINS, P. M.; PAULA, J. A. M.; FIUZA, T. S.; RESVENZOL, L. M. F.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 2, p. 240-245, 2011.

DAN, Y.; LIU, H. Y.; GAO, W. W.; CHEN, S. L. Activities of essential oils from *Asarum heterotropoides* var. *mandshuricum* against five phytopathogens. **Crop Protection**, v. 29, p. 295-299, 2010.

DERBALAH, A. S.; DEWIR, Y. H.; EL-SAYED, A. E. Antifungal activity of some plant extracts against sugar beet damping-off caused by *Sclerotium rolfsii*. **Annals of Microbiology**, 2011.

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 fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 10, n. 4, p. 9-11, 2008.

DOMINGUES, R. J.; YOUNG, M. C. M.; TÖFOLI, J. G.; MATHEUS, D. R. Potencial antifúngico de extratos de plantas e de basidiomicetos nativos sobre *Colletotrichum acutatum*,

*Alternaria solani* e *Sclerotium rolfsii*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 37, n. 3, p. 149-151, 2011.

FARIA, T. J.; FERREIRA, R. S.; YASSUMOTO, L.; SOUZA, J. R. P.; ISHIKAWA, N. K.; BARBOSA, A. M. Antifungal activity of essential oil isolated from *Ocimum gratissimum* L. (eugenol chemotype) against phytopathogenic fungi. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 6, p. 867-871, 2006.

FESSEHAIE, Y. H.; LING, K. S.; WECHTER, W. P.; KEINATH, A. P.; WALCOTT, R. R. Simultaneous detection of *Acidovorax avenae* subsp. *Citrulli* and *Didymella bryoniae* in cucurbit seedlots using magnetic capture hybridization and real-time polymerase chain reaction. **Phytopathology**, v. 99, n. 6, p. 666-678, 2009.

FIORI, A. C. G.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; SCAPIM, C. A.; CRUZ, M. E. S.; PASCHOLATI, S. F. Antifungal Activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. **Journal of Phytopathology**, 148, p. 483-487, 2000.

FORMIGHIERI, A. P.; STANGARLIN, J. R.; MEINERZ, C. C.; FRANZENER, G.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Avaliação do potencial da planta *Adiantum capillus-veneris* (L.) no controle de fitopatógenos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 3, p. 487-496, 2010.

GUIMARÃES, L. G. L.; CARDOSO, M. G.; SOUSA, P. E.; ANDRADE, J.; VIEIRA, S. S. Atividades antioxidante e fungitóxica do óleo essencial de capim-limão e do citral. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 464-472, 2011.

ITAKO, A. T.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; TOLENTINO JÚNIOR, J. B.; SILVA CRUZ, M. E. Controle de *Cladosporium fulvum* em tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 1, p. 75-83, 2009.

ITAKO, A. T.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; TOLENTINO JÚNIOR, J. B.; STANGARLIN, J. R.; SILVA CRUZ, M. E. Atividade antifúngica e proteção do tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n. 3, p. 241-244, 2008.

LEE, Y.; KIM, J.; SHIN, S.; LEE, S.; PARK, I. I. Antifungal activity of Myrtaceae essential oils and their components against three phytopathogenic fungi. **Flavour Fragrance Journal**, v. 23, p. 23-28, 2008.

MARTINS, M. V. V.; SILVEIRA, F. S.; CARVALHO, A. J. C.; SOUZA, E. F. Erradicação de escleródios de *Sclerotium rolfsii* em substratos tratados em coletores solares, em Campos dos Goytacazes – RJ. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 421-424, 2003.

MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R. T.; MAGNO JUNIOR, R. G.; LOPES, E. A. G. L. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & p. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras: v. 31, n. 1, p. 83-90, 2007.

PEREIRA, M. C.; VILELA, G. R.; COSTA, L. M. A. S.; SILVA, R. F.; FERNANDES, A. F.; FONSECA, E. W. N.; PICCOLI, R. H. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.4, p. 731-738, 2006.

PEREIRA, R. B.; LUCAS, G. C.; PERINA, F. J.; RESENDE, M. L. V.; ALVES, E. Potential of essential oils for the control of brown eye spot in coffee plants. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 1, p. 115-123, 2011.

RASOOLI, I.; REZAEI, M. B.; ALLAMEH, A. Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus xporlock*. **Food Control**, v. 17, p. 359-364, 2006.

REGNIER, T.; PLOOY, W.; COMBRINCK, S. BOTHA, B. Fungitoxicity of *Lippia scaberrima* essential oil and selected terpenoid components on two mango postharvest spoilage pathogens. **Postharvest Biology and Technology**, v. 48, p. 254-258, 2008.

RIBEIRO JÚNIOR, J. I.; MELO, A. L. P. **Guia Prático para Utilização do SAEG**. Viçosa: UFV, 2008. 288p.

ROZWALKA, L. C.; LIMA, M. L. R. Z. C.; MIO, L. L. M.; NAKASHIMA, T. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 301-307, 2008.

SALGADO, A. P. S. P.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; SOUZA, J. P.; ABREU, C. M. P.; PINTO, J. E. B. P. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 2, p.249-254, 2003.

SANTOS, G. R.; CASTRO NETO, M. D.; RAMOS, L. N. ; CAFÉ-FILHO, A. C.; REIS, A.; MOMENTÉ, V. G.; PELÚZIO, J. M.; IGNÁCIO, M. Reaction of melon genotypes to the gummy stem blight and the downy mildew. **Horticultura Brasileira**, v. 27, p. 160-165, 2009.

SCAPIN, C. R.; CARNELOSSI, P. R.; VIEIRA, R. A.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S. Fungitoxidade I de extratos vegetais sobre *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 1, p. 57-61, 2010.

SERRA, I. M. R.; SILVA, G. S. Caracterização Biológica e Fisiológica de Isolados de *Sclerotium rolfsii* Obtidos de Pimentão no Estado do Maranhão. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 1, p. 61-66, 2005.

SILVA, D. M. M. H.; BASTOS, C. N. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de *Piper* sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 143-145, 2007.

SOUZA JÚNIOR, I. T.; SALES, N. L. P.; MARTINS, E. R. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. **Revista Biotemas**, v. 22, n.3, p. 77-83, 2009.

TAGAMI, O. K.; GASPARIN, M. D.; SCHWAN-ESTRADA, K, R, F.; SILVA CRUZ, M. E.; ITAKO, A. T.; TOLENTINO JÚNIOR, J. B.; MORAES, L. M.; STANGARLIN, J. R. Fungitoxidade de *Bidens pilosa*, *Thymus vulgaris*, *Lippia alba* e *Rosmarinus officinalis* no desenvolvimento *in vitro* de fungos fitopatogênicos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 285-294, 2009.

TRIANA, A. C.; GONZÁLEZ, D. R. Efecto del OleoNim 50 CE sobre el crecimiento y desarrollo *in vitro* de hongos fitopatógenos del arroz (*Oryza sativa* Lin.). **Fitosanidad**, v. 13, n. 4, p. 271-276, 2009.

YAMAMOTO, P. Y.; COLOMBO, C. A.; AZEVEDO FILHO, J. A.; LOURENÇÃO, A. L.; MARQUES, M. O. M.; MORAIS, G. D. S.; CHIORATO, A. F.; MARTINS, A. L. M.; SIQUEIRA, W. J. Performance of ginger grass (*Lippia alba*) for traits related to the production of essential oil. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, n. 5, p. 481-489, 2008.

ZANANDREA, L.; JULIANO, D. S.; ANDRÉA, B. M.; JULIANE, L.; VERIDIANA, K. B. Atividade do óleo essencial de orégano contra fungos patogênicos do arroz: crescimentos micelial em placas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, supl. 01, p. 14-16, 2004.

## **CAPÍTULO V**

---

---

### **Fitotoxicidade de óleos essenciais em plantas de melancia, feijão e arroz**

## Fitotoxicidade de óleos essenciais em plantas de melancia, feijão e arroz

Phytotoxicity of essential oils in plants of watermelon, beans and rice.

### RESUMO

A aplicação de óleos essenciais na agricultura tem sido destaque em muitos estudos, porém pesquisas que mostram sua bioatividade sobre plantas cultiváveis são limitadas. Assim, objetivou-se avaliar a ação dos óleos essenciais de citronela (*Cymbopogon nardus*), capim-limão (*C. citratus*), erva-cidreira (*Lippia alba*) e hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) sobre as plantas de melancia (*Citrullus lanatus*), feijão-carioca (*Phaseolus vulgaris*) e arroz (*Oryza sativa*). O experimento foi conduzido em casa de vegetação. Para cada cultura foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com esquema fatorial com quatro repetições, em que os fatores foram quatro tipos de óleos essenciais (*C. nardus*, *C. citratus*, *L. alba* e *M. piperita*) e quatro concentrações dos óleos (0,5; 1; 2; e 4%). Dezoito dias após o plantio, as plantas foram pulverizadas com as soluções dos óleos essenciais. Vinte e quatro horas após a aplicação foi feita a avaliação de fitotoxicidade utilizando-se a escala de notas de zero (0) (ausência de fitotoxicidade) a 100 (100%) (murcha e ressecamento da planta). A concentração de 2% dos quatro óleos essenciais avaliados foi fitotóxica para as três culturas. Nas plantas de melancia a maior fitotoxicidade foi do óleo de capim-limão, que nas concentrações de 2 e 4% apresentou toxicidade de 68,75 e 75%, respectivamente. O feijão foi o menos sensível aos óleos essenciais, apresentando 50% de fitotoxicidade quando submetido aos óleos de citronela e capim-limão a 4%. Ocorreu murcha e ressecamento das plantas de arroz sob 4% dos óleos de hortelã-pimenta e citronela.

**Palavras-chave:** Plantas medicinais, Injúrias, *Citrullus lanatus*, *Phaseolus vulgaris* e *Oryza sativa*.

## ABSTRACT

The applying of essential oils in agriculture has been featured on several studies, however, researches showing its bioactivity on cultivable plants are limited. Thus, the purpose was to evaluate the action of the citronella (*Cymbopogon nardus*), lemongrass (*C. citratus*), Lemon balm (*Lippia alba*), and peppermint (*Mentha piperita*) essential oils on watermelon (*Citrullus lanatus*), bean (*Phaseolus vulgaris*), and rice (*Oryza sativa*) plants. The experiment was conducted in a greenhouse. To each culture, it was used a fully randomized design in factorial scheme with four replications, in which the factors were four essential oil types (*C. nardus*, *C. citratus*, *L. alba* and *M. piperita*) and four oil concentrations (0.5, 1, 2, and 4%). Eighteen days after planting, plants were sprayed with the solutions of the essential oils. Twenty-four hours after the applying, it was done a phytotoxicity evaluation using a scale from zero (0) (no phytotoxicity) to one hundred (100%) (wilt and drying plants). The concentration of 2% of the four essential oils evaluated were phytotoxic for the three cultures. In watermelon plants, the highest phytotoxicity was shown by the lemongrass oil, which in concentrations of 2 and 4% showed toxicity of 75 and 68.75%, respectively. Beans were the least sensitive to essential oils, they showed 50% of phytotoxicity when subjected to 4% citronella and lemongrass oils. Occurred drying of rice plants submitted to 4% peppermint and lemongrass oils.

**Keywords:** Medicinal plants, Injuries, *Citrullus lanatus*, *Phaseolus vulgaris* and *Oryza sativa*.

## INTRODUÇÃO

Os problemas ambientais e na saúde humana causados pelo uso intensivo de agrotóxicos na agricultura têm levado uma conseqüente busca por produtos e tecnologias que reduzam o uso desses compostos químicos na produção de alimentos (Silva et al., 2010). O uso de substâncias naturais com ação fungicida, inseticida e herbicida, atualmente, é foco de pesquisas que visam uma produção de alimentos com degradação mínima dos recursos naturais.

Muitas plantas medicinais, aromáticas e condimentares podem desempenhar um importante papel no desenvolvimento da agricultura sustentável, uma vez que produzem óleos essenciais que podem ser usados na fabricação de pesticidas biológicos (Dhima et al., 2010). Os óleos essenciais apresentam grande potencial no manejo integrado de doenças, pois são considerados seguros, não só pela sua baixa toxicidade a mamíferos, mas por sua rápida degradação no meio ambiente. Devido sua alta volatilidade, eles não se acumulam em solos nem em águas subterrâneas (Dhima et al., 2010; Grosso et al., 2010; Silva et al., 2010).

Os fenóis e terpenos são os principais componentes dos óleos essenciais, e muitos estudos mostram sua ação fungicida, bactericida e inseticida (Dhima et al., 2010; Ootani et al., 2011). Apesar de apresentarem grande potencial de uso na agricultura sustentável, esses metabólitos secundários também podem prejudicar os vegetais e interferir na germinação e desenvolvimento de plantas. Os mono e sesquiterpenos podem afetar os processos fisiológicos em plantas como na fotossíntese e síntese de clorofila, no acúmulo de lipídios no citoplasma e na redução de organelas devido a ruptura de membranas (Grosso et al., 2010). A fitotoxicidade de extratos de plantas deve-se à diversidade de aleloquímicos presentes em sua composição, os quais são originários do metabolismo secundário dos vegetais (Brito et al., 2010).

Kaur et al. (2010) verificaram redução na germinação de sementes e desenvolvimento da raiz de plantas daninhas quando submetidas ao óleo essencial de *Artemisia scoparia*. Além da perda de eletrólitos, devido o rompimento da membrana celular, os autores observaram uma redução no nível de clorofila e atividade respiratória das plantas sob 2% do óleo essencial. Rai et al. (2003) observaram a inibição da abertura estomática de *Vicia faba* por monoterpenos voláteis de folhas de *Prinsepia utilis*. Os autores observaram que a quantidade de  $K^+$  foi drasticamente reduzida no tratamento com compostos voláteis. Abraham et al. (2000) avaliaram o efeito de 4 monoterpenos (cânfora, eucaliptol, limoneno e  $\alpha$ -pipeno) sobre o metabolismo oxidativo de mitocôndrias isoladas da raiz de milho (*Zea mays*), sobre a germinação de sementes e no crescimento da raiz principal. Os autores observaram que os monoterpenos interferem na capacidade respiratória, o que pode ter levado a diminuição da germinação das sementes e a redução do crescimento da raiz principal.

Devido o ataque de fungos fitopatogênicos, as perdas na produção de melancia, feijão e arroz são consideradas de grande impacto no Brasil. Assim o uso de óleos essenciais pode ser um fator relevante para o manejo integrado das doenças que comprometem essa produção. Porém, a fitotoxicidade de extratos vegetais deve ser considerada, tornado-se fundamental a

avaliação de toxicidade de óleos essenciais, promissores para o controle de doenças, sobre essas culturas.

Devido à escassez de informações sobre as injúrias que os óleos essenciais podem provocar nas plantas cultivadas, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a ação dos óleos essenciais de citronela (*Cymbopogon nardus*), capim-limão (*C. citratus*), erva-cidreira (*Lippia alba*) e hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) sobre plântulas de melancia (*Citrullus lanatus*), feijão-carioca (*Phaseolus vulgaris*) e arroz (*Oryza sativa*).

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em condições de casa de vegetação, na Universidade Federal do Tocantins, Campus de Gurupi, TO.

Foram utilizadas bandejas plásticas (42 x 27 x 7 cm) com quatro litros de substrato comercial Germinar®. Foram adicionados 10 g de adubo NPK (5-25-15) por bandeja.

No plantio de melancia foram utilizadas sementes *Crimson Sweet* (Feltrin®-sementes) adquiridas no comércio local. Foram feitas cinco linhas por bandeja e plantadas 8 sementes por linha. Para o plantio de arroz foram utilizadas sementes EPAGRI-116 oriundas de área comercial do Projeto Rio Formoso, TO. Foram feitas 8 linhas por bandeja e foram plantadas 12 sementes por linha. No plantio de feijão foram utilizadas sementes de feijão-carioca adquiridas no Mercado Municipal de Gurupi, TO. Foram feitas quatro linhas por bandeja e foram plantadas 10 sementes por linha.

Após a semeadura, as bandejas foram irrigadas diariamente e mantidas em casa de vegetação para o crescimento das plântulas até o momento do ensaio de fitotoxicidade.

Para obtenção dos óleos essenciais, folhas de Citronela (*Cymbopogon nardus*), Capim-limão (*C. citratus*) e Erva-cidreira (*Lippia alba*) foram desidratadas à temperatura ambiente. A extração foi realizada pelo método de hidrodestilação (Castro et al., 2010), utilizando o aparelho Clevenger. Os sobrenadantes foram coletados e armazenados em frascos estéreis. O óleo de hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) foi adquirido em frasco comercial (DOKMOS - Cosméticos®) no Mercado Municipal de Gurupi - TO.

Para preparar as soluções dos óleos essenciais foram utilizados tubos de ensaio estéreis, água destilada e Tween 80. Nos tubos de ensaio foi adicionado primeiramente o óleo essencial na concentração desejada. Foram utilizadas quatro concentrações: 0,5; 1; 2; e 4%. O

dispersante Tween 80 (1,5%) foi adicionado para homogeneizar a mistura do óleo com a água. Foram adicionados 20 ml de água em cada tubo, formando assim as soluções para os ensaios de fitotoxicidade.

Para cada cultura foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial com quatro repetições, em que os fatores foram quatro tipos de óleos essenciais (citronela, capim-limão, erva-cidreira e hortelã-pimenta) e quatro concentrações dos óleos (0,5; 1; 2; e 4% v.v.). Para a comparação dos resultados, foram utilizadas duas testemunhas, sendo que em uma delas aplicou-se nas plantas apenas água destilada e na outra aplicou-se Tween 80 a 1,5%.

Para a aplicação dos tratamentos foram utilizados borrifadores manuais. As plantas foram pulverizadas com 20 mL da solução aos 18 dias após a semeadura. Nesta fase, todas as plântulas já apresentavam no mínimo duas folhas definitivas. Decorridas vinte e quatro horas após a aplicação, foi feita a avaliação de fitotoxicidade utilizando-se a escala de fitotoxicidade adaptada de Dequech et al. (2008), Freitas et al. (2009) e Cogliatti et al. (2011) (0% = ausência de fitotoxicidade; 1 – 25% = leve necrose nas folhas ou leve clorose da planta; 26 – 50% = necrose moderada nas folhas ou clorose moderada da planta; 51 – 75% = alta necrose nas folhas ou alta clorose da planta; 76 – 100% = murcha e ressecamento da planta).

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As análises foram realizadas por meio do sistema computacional SAEG (Ribeiro Júnior & Melo, 2008).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O resultado da análise de variância (Tabela 1) revelou que as variações em função das fontes óleos essenciais, concentrações e a interação entre eles foram significativas a 1% de probabilidade para as três culturas avaliadas.

Para todas as culturas avaliadas, o surfactante Tween 80 (1,5%) e a água destilada não apresentaram fitotoxicidade.

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância da fitotoxicidade (%) dos óleos essenciais (OE) de citronela (*Cymbopogon nardus*), capim-limão (*C. citratus*), erva-cidreira (*Lippia alba*) e hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) sobre plantas de melancia (*Citrullus lanatus*), feijão-carioca (*Phaseolus vulgaris*) e arroz (*Oryza sativa*).

Fontes de variação	G. L. <sup>1</sup>	Quadrado Médio		
		Melancia	Feijão-carioca	Arroz
OE	3	2239,58**	603,30**	1302,08**
Concentrações	2	7669,27**	3372,40**	26614,58**
OE x Conc.	6	377,60**	525,17**	781,24**
Resíduo	36	52,08	39,06	17,36
<b>C. V.<sup>2</sup></b>		18,70	24,50	10,80

\*\*Significativo a 1% de probabilidade; <sup>1</sup>G.L.: Grau de liberdade; <sup>2</sup>C.V.: Coeficiente de variação.

O principal sintoma de fitotoxicidade nas plântulas de melancia e feijão-carioca foi o aparecimento de necrose nas folhas, principalmente nas regiões em que a solução do óleo essencial se acumulava, como nas bordas e nas nervuras foliares. No feijoeiro não houve plantas com sintoma de murcha, mas para a melancia as concentrações de 2 e 4% dos óleos essenciais de citronela e capim-limão provocaram murcha em algumas plantas.

A Tabela 2 mostra a fitotoxicidade (%) dos óleos essenciais sobre as plantas de melancia.

**Tabela 2.** Fitotoxicidade (%) de diferentes concentrações dos óleos essenciais de citronela, capim-limão, erva-cidreira e hortelã-pimenta sobre plantas de melancia.

Concentração (%)	Óleo essencial			
	Citronela	Capim-limão	Erva-cidreira	Hortelã-pimenta
0 <sup>1</sup>	0	0	0	0
0,5 <sup>1</sup>	0	0	0	0
1	25Ab	25Ab	18,75Ab	0Bc
2	31,25Bb	68,75Aa	25Bb	25Bb
4	68,75Aa	75Aa	50Ba	50Ba

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; <sup>1</sup>Dose não fitotóxica.

Para todos os óleos avaliados, a concentração de 0,5% não foi fitotóxica. A concentração de 1% dos óleos de citronela, capim-limão e erva-cidreira mostrou baixa toxicidade ( $\leq 25\%$ ), uma vez que as plantas apresentaram leve necrose nas folhas.

O óleo essencial de hortelã-pimenta foi o que apresentou menos toxicidade à melancia, pois apenas as concentrações de 2 e 4% foram prejudiciais as plantas. O óleo de capim-limão foi o mais fitotóxico, pois, diferente dos outros óleos avaliados, apresentou alta toxicidade (68,75%) na concentração de 2%. Considerando a maior concentração avaliada (4%), não houve diferença significativa entre os óleos de citronela e capim-limão, e entre os óleos de erva-cidreira e hortelã-pimenta, sendo que os dois primeiros foram mais tóxicos, apresentando fitotoxicidade de 68,75 e 75%, respectivamente (Tabela 2).

É conhecido que necroses nas folhas constituem um sintoma comum de fitotoxicidade. Vieira et al. (2003) avaliaram a fitotoxicidade de fungicidas, acaricidas e inseticidas sintéticos sobre o mamoeiro e observaram necrose nas folhas quando as plantas foram submetidas ao inseticida Abamectina associado ao fungicida Oxícloreto de cobre ou ao Thiabendazole. Óleos essenciais de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), cravo (*Syzygium aromaticum*), tomilho-vermelho (*Thymus vulgaris*) e segurelha (*Satureja hortensis*), a uma concentração de 1%, ocasionaram injúrias foliares em sorgo-bravo (*Sorghum halepense*), ançarinha-branca (*Chenopodium album*) e ambrosia-americana (*Ambrosia artemisiifolia*) (Tworkoski, 2002).

A Tabela 3 revela a fitotoxicidade (%) dos óleos essenciais sobre plantas do feijoeiro. Somente os óleos de capim-limão e erva-cidreira apresentaram fitotoxicidade na concentração de 1%. Sob essa concentração as plantas apresentaram leve necrose nas folhas. Quando submetidas aos óleos de erva-cidreira e hortelã-pimenta, mesmo nas concentrações de 2 e 4%, as plantas apresentaram leves sintomas de fitotoxicidade (25%). Sob a concentração de 4% dos óleos de citronela e capim-limão, as plantas apresentaram nível médio de toxicidade (50%), uma vez que ocorreram necroses acentuadas nas folhas (Tabela 3).

Dequech et al. (2008) observaram que o óleo comercial de nim (DalNeem®) e extrato aquoso de pó-de-fumo causaram necrose e leve clorose nas folhas de feijão-de-vagem (*Phaseolus vulgaris*), respectivamente.

A redução da área foliar, ocasionada pelas necroses foliares, pode prejudicar a taxa fotossintética das plantas e, conseqüentemente, reduzir a produção da cultura. Esta redução na atividade fotossintética pode ser causada por redução na interceptação da radiação, resultante da perda de área foliar fotossintetizante (Godoy et al., 2001).

**Tabela 3.** Fitotoxicidade (%) de diferentes concentrações dos óleos essenciais de citronela, capim-limão, erva-cidreira e hortelã-pimenta sobre plantas de feijão-carioca.

Concentração (%)	Óleo essencial			
	Citronela	Capim-limão	Erva-cidreira	Hortelã-pimenta
0 <sup>1</sup>	0	0	0	0
0,5 <sup>1</sup>	0	0	0	0
1	0Bb	18,75Ab	18,75Aa	0Bb
2	43,75Aa	25Ba	25Ba	25Ba
4	50Aa	50Aa	25Ba	25Ba

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; <sup>1</sup>Dose não fitotóxica.

Na Tabela 4 pode-se observar a fitotoxicidade dos óleos essenciais sobre as plantas de arroz. As concentrações de 1% dos óleos essenciais de capim-limão, erva-cidreira e hortelã-pimenta não foram tóxicas. Sertkaya et al. (2010), avaliando a mesma concentração (1%) dos óleos de orégano, tomilho, lavanda e hortelã, observaram que plantas de feijão, tomate, pepino, pimentão e berinjela não apresentaram sintomas de fitotoxicidade.

**Tabela 4.** Fitotoxicidade (%) de diferentes concentrações dos óleos essenciais de citronela, capim-limão, erva-cidreira e hortelã-pimenta sobre plantas de arroz.

Concentração (%)	Óleo essencial			
	Citronela	Capim-limão	Erva-cidreira	Hortelã-pimenta
0 <sup>1</sup>	0	0	0	0
0,5 <sup>1</sup>	0	0	0	0
1	25Ab	0Bc	0Bc	0Bc
2	25Ab	25Ab	25Ab	25Ab
4	100Aa	87,5Ba	50Ca	100Aa

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; <sup>1</sup>Dose não fitotóxica.

A concentração de 2% de todos os óleos avaliados apresentaram baixa fitotoxicidade (25%), uma vez que as plantas de arroz sob essa concentração apresentaram apenas uma leve clorose no colmo (Tabela 4). Batish et al. (2007), usando o óleo de eucalipto para o controle

alternativo de *Phalaris minor*, observaram que plantas de 28 dias, tratadas com 2,5% do óleo, apresentaram clorose.

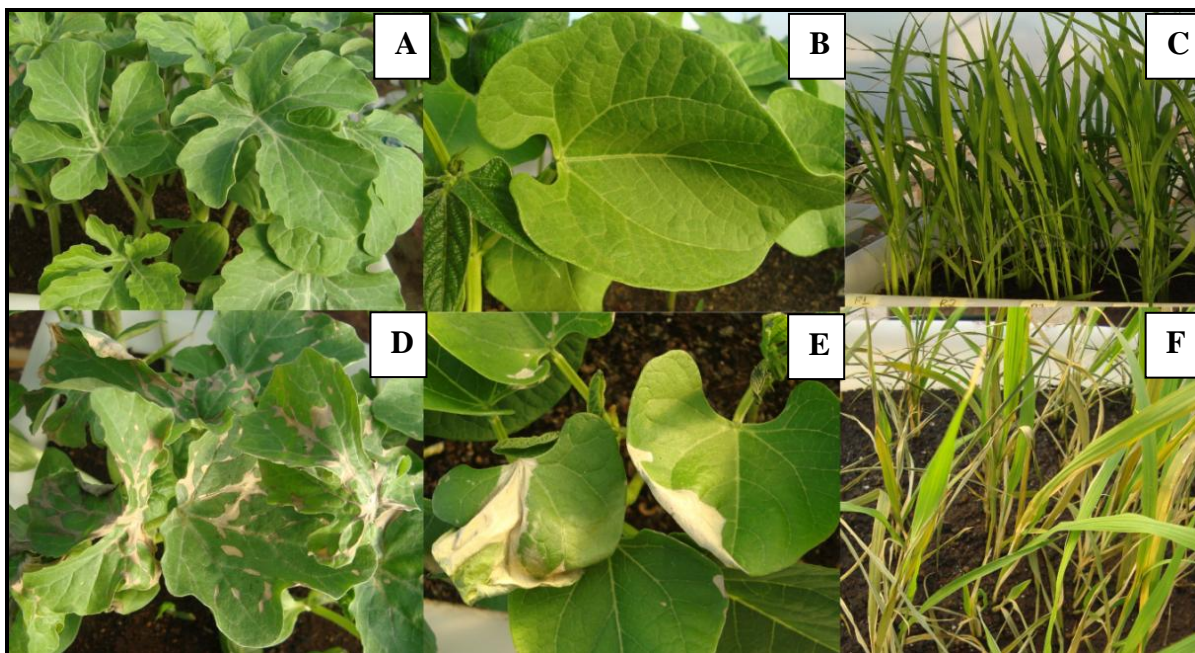
O óleo essencial de erva-cidreira foi o menos fitotóxico para o arroz. Plantas de arroz submetidas a 4% desse óleo apresentaram toxicidade média (50%), tendo a clorose acentuada como principal sintoma. As doses de 4% dos óleos de citronela e hortelã-pimenta ocasionaram murcha e ressecamento nas plantas de arroz. O óleo de capim-limão, na mesma concentração, também apresentou alta fitotoxicidade (87,5%) (Tabela 4). Perini et al. (2011) observaram que doses de 2, 6 e 8% do óleo essencial de citronela foram altamente tóxicas para plantas de arroz.

A fitotoxicidade, expressa pelo amarelecimento das plantas de arroz, observada nesse experimento, pode ser explicada pela interferência dos compostos majoritários, dos óleos avaliados, no conteúdo de clorofila e na integridade das membranas. Kaur et al. (2010) avaliaram o efeito fitotóxico do óleo essencial da *Artemisia scoparia* contra as ervas-daninhas *Echinochloa crus-galli* e *Parthenium hysterophorus*. As concentrações de 2, 4 e 6% do óleo causaram clorose, necrose e murcha nas plantas. Segundo esses autores, a clorose ocorreu devido à perda do conteúdo de clorofila, e o murchamento foi provocado pelo vazamento excessivo de eletrólitos devido o rompimento da integridade da membrana celular. Singh et al. (2005) também observaram murcha e ressecamento de *P. hysterophorus* quando submetida a 50  $\mu\text{L mL}^{-1}$  do óleo de *Eucalyptus citriodora*. Batish et al. (2004) avaliaram a fitotoxicidade do óleo de eucalipto e o seu potencial uso como herbicida, e observaram que as ervas-daninhas *Cassia occidentalis* e *E. crus-galli* foram drasticamente afetadas pelo óleo.

De acordo com Batish et al. (2007) a ação do óleo essencial na integridade da membrana é um efeito primário e a redução do conteúdo de clorofila é um efeito secundário, devido ao rompimento da membrana.

Clay et al. (2005) observaram fitotoxicidade do óleo de citronela sobre as ervas-daninhas *Ranunculus repens*, *Rubus obtusifolius*, *Senecio jacobaea* e *Urtica dioica*. Os autores observaram redução significativa da cobertura verde de todas as plantas estudadas.

A Figura 1 apresenta plantas de melancia, feijão e arroz sem sintomas de fitotoxicidade (A, B e C, respectivamente) e os principais sintomas de toxicidade do óleo de capim-limão a 4% sobre essas plantas. Necroses na área foliar foi o principal sintoma observado nas plantas de melancia e de feijão (Figura 1D e 1E). Para o arroz, destaca-se a clorose, murcha e ressecamento da planta (Figura 1F).



**Figura 1.** Fitotoxicidade do óleo essencial de capim-limão a 4% sobre plantas de melancia, feijão-carioca e arroz. A, B e C: melancia, feijão e arroz, respectivamente, sem fitotoxicidade; D e E: necroses foliares em melancia e feijão-carioca, respectivamente; F: plantas de arroz com clorose, murcha e ressecamento.

Observando as manchas foliares ocasionados pelo óleo essencial de capim-limão nas plantas de melancia e feijão (Figura 1D e 1E), pode-se inferir que os tecidos de folha sem lesão não foram suficientemente expostos ao óleo essencial. Provavelmente, devido ao maior acúmulo do óleo em tecidos localizados em áreas mais baixas das folhas. Possivelmente, uma cobertura mais uniforme, com auxílio de adjuvantes, poderia ter aumentado a lesão da planta.

A toxicidade do óleo de capim-limão foi também observada na germinação e comprimento de mudas de *P. hysterophorus* pelos autores Paudel e Gupta (2008). Segundo esses autores, o óleo reduziu significativamente a germinação das sementes e o crescimento das mudas. Essa redução de crescimento pode ser explicada pela perda da atividade respiratória, que afeta a síntese de macromoléculas (Batish et al., 2007).

De acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir que as concentrações de 2 e 4% dos óleos essenciais de citronela (*C. nardus*), capim-limão (*C. citratus*), erva-cidreira (*L. alba*) e hortelã-pimenta (*M. piperita*) causaram fitotoxicidade nas culturas de melancia (*C. lanatus*), feijão-carioca (*P. vulgaris*) e arroz (*O. sativa*). Deve-se considerar que outros estudos deverão ser realizados buscando-se obter informações mais

completas sobre concentrações de diferentes óleos que sejam eficazes no controle de doenças em doses que não apresentem fitotoxicidade às plantas de interesse agrícola.

## REFERÊNCIAS

ABRAHIM, D.; BRAGUINI, W. L.; KELMER-BRACHT, A. M.; ISHII-IWAMOTO, E. L. Effects of four monoterpenes on germination, primary root growth, and mitochondrial respiration of maize. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, n. 3, p. 611-624, 2000.

BATISH, D. R.; SETIA, N.; SINGH, H. P.; KOHLI, R. K. Phytotoxicity of lemon-scented eucalypt oil and its potential use as a bioherbicide. **Crop Protection**, v. 23, p. 1209-1214, 2004.

BATISH, D. R.; SINGH, H. P.; SETIA, N.; KOHLI, R. K.; KAUR, S.; YADAV, S. S. Alternative control of littleseed canary grass using eucalypt oil. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 27, p. 171-177, 2007.

BRITO, N. M.; NASCIMENTO, L. C.; COELHO, M. S. E.; FÉLIX, L. P. Efeitos de óleos essenciais na germinação de sementes de *Cereus jamacaru*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 5, n. 2, p. 207-211, 2010.

CASTRO, H. G.; PERINI, V. B. M.; SANTOS, G. R.; LEAL, T. C. A. B. Avaliação do teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.) em diferentes épocas de colheita. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 2 p. 308-314, 2010.

CLAY, D. V.; DIXON, F. L.; WILLOUGHBY, I. Natural products as herbicides for tree establishment. **Forestry**, v. 78, n. 1, p. 1-9, 2005.

DEQUECH, S. T. B.; RIBEIRO, L. P.; SAUSEN, C. D.; EGEWARTH, R.; KRUSE, N. D. Fitotoxicidade causada por inseticidas botânicos em feijão-de-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado em estufa plástica. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v. 15, n. 1, p. 71-80, 2008.

DHIMA, K.; VASILAKOGLU, I.; GARANE, V.; RITZOULIS, C.; LIANOPOULOU, V.; PANOU-PHILOTHEOU, E. Competitiveness and essential oil phytotoxicity of seven annual aromatic plants. **Weed Science**, v. 58, p. 457-465, 2010.

FREITAS, S. P.; MOREIRA, J. G.; FREITAS, I. L. J.; FREITAS JÚNIOR, S. P.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; SILVA, V. Q. R. Fitotoxicidade de herbicidas a diferentes cultivares de milho-pipoca. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 27, n. esp., p. 1095-1103, 2009.

GODOY, C. V.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Alterações na fotossíntese e na transpiração de folhas de milho infectadas por *Phaeosphaeria maydis*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 209-213, 2001.

GOGLIATTI, M.; JUAN, V. F.; BONGIORNO, F.; DALLA VALLE, H.; ROGERS, W. J. Control of grassy weeds in annual canarygrass. **Crop Protection**, v. 30, p. 125-129, 2011.

GROSSO, C.; COELHO, J. A.; URIETA, J. S.; PALAVRA, A. M. F.; BARROSO, J. G. Herbicidal activity of volatiles from coriander, winter savory, cotton lavender, and thyme isolated by hydrodistillation and supercritical fluid extraction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 20, p. 11007-11013, 2010.

KAUR, S.; SINGH, H. P.; MITTAL, S.; BATISH, R.; KOHLI, K. Phytotoxic effects of volatile oil from *Artemisia scoparia* against weeds and its possible use as a bioherbicide. **Industrial Crops and Products**, v. 32, p. 54-61, 2010.

OOTANI, M. A.; AGUIAR, R. W. S.; MELLO, A. V.; DIDONET, J.; PORTELLA, A. C. F.; NASCIMENTO, I. R. Toxicidade de óleos essenciais de eucalipto e citronela sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 27, n. 4, p. 609-618, 2011.

PAUDEL, V. R.; GUPTA, V. N. P. Effect of some essential oils on seed germination and seedling length of *Parthenium hysterophorous* L. **ECOPRINT**, v. 15, p. 69-73, 2008.

PERINI, V. B. M.; CASTRO, H. G.; SANTOS, G. R.; AGUIAR, R. W. S.; LEÃO, E. U. SEIXAS, P. T. Avaliação do efeito curativo e preventivo do óleo essencial do capim citronela no controle de *Pyricularia grisea*. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 2, n. 2, p. 23-27, 2011.

RAI, V. K.; GUPTA, S. C.; SINGH, B. Volatile monoterpenos from *Prinsepia utilis* L. leaves inhibit stomatal opening in *Vicia faba* L. **Biologia Plantarum**, v. 46, n. 1, p. 121-124, 2003.

RIBEIRO JÚNIOR, J. I.; MELO, A. L. P. **Guia Prático para Utilização do SAEG**. Viçosa: UFV, 2008. 288p.

SERTKAYA, E.; KAYA, K.; SOYLU, S. Acaricidal activities of the essential oils from several medicinal plants against the carmine spider mite (*Tetranychus cinnabarinus* Boisd.) (Acarina: Tetranychidae). **Industrial Crops and Products**, v. 31, p. 107-112, 2010.

SILVA, M. B.; MORANDI, M. A. B.; PAULA JÚNIOR, T. J.; VENZON, M.; FONSECA, M. C. M. Uso de princípios bioativos de plantas no controle de fitopatógenos e pragas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 31, n. 255, p. 70-77, 2010.

SINGH, H. P.; BATISH, D. R.; SETIA, N.; KOHLI, R. K. Herbicidal activity of volatile oils from *Eucalyptus citriodora* against *Parthenium hysterophorus*. **Annals of Applied Biology**, v. 146, p. 89-94, 2005.

TWORKOSKI, T. Herbicide effects of essential oils. **Weed Science**, v. 50, p. 425-431, 2002.

VIEIRA, A.; RUGGIERO, C.; MARIN, S. L. D. Fitotoxicidade de fungicidas, acaricidas e inseticidas sobre o mamoeiro (*Carica papaya* L.) cultivar Sunrise Solo Improved Line 72/12. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 175-178, 2003.

## **CAPÍTULO VI**

---

---

**Efeito de óleos essenciais de plantas medicinais  
sobre a antracnose do sorgo e a  
helminthosporiose do capim Tanzânia.**

## **Efeito de óleos essenciais de plantas medicinais sobre a antracnose do sorgo e a helmintosporiose do capim Tanzânia.**

Effect of essential oils of medicinal plants on the anthracnose of sorghum and blotch grass Tanzânia.

### **RESUMO**

Manchas foliares, causadas por fungos fitopatogênicos, podem reduzir a produção de culturas forrageiras. Os óleos essenciais de plantas medicinais apresentam potencial antimicrobiano. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito preventivo e curativo de óleos essenciais sobre a antracnose do sorgo e a helmintosporiose do capim. Para verificar o efeito preventivo das doenças foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial com quatro repetições, em que os fatores foram cinco tipos de óleos (citronela, capim-limão, erva-cidreira, hortelã-pimenta e nim) e quatro concentrações dos óleos (0,25; 0,50; 0,75; e 1%). Foram utilizadas duas testemunhas, sendo uma absoluta (aplicação de água) e outra relativa (aplicação de tiofanato metílico). Para o efeito curativo da antracnose, os fatores foram os cinco óleos essenciais utilizados no efeito preventivo da doença em duas doses (0,25 e 0,50% v.v.). Para a avaliação do efeito curativo da helmintosporiose do capim, foi utilizado o mesmo delineamento, tratamento, dosagem e testemunhas já descritas para o efeito preventivo. A avaliação da severidade das doenças foi realizada por escala de notas. No efeito preventivo da antracnose, tanto os óleos essenciais quanto as concentrações avaliadas reduziram significativamente a severidade da doença, destacando-se os óleos de capim-limão, erva-cidreira e nim. No efeito curativo da antracnose, os tratamentos de óleos essenciais e Tiofanato metílico reduziram a severidade, porém não apresentaram diferença significativa entre si. Para a helmintosporiose do capim, todos os óleos essenciais e concentrações avaliadas reduziram a severidade da doença no efeito preventivo. No efeito curativo, os tratamentos de óleos essenciais e tiofanato metílico reduziram a severidade da helmintosporiose.

**Palavras-chaves:** Efeito preventivo, Efeito curativo, Severidade da doença, *Colletotrichum graminicola* e *Helminthosporium* sp.

## ABSTRACT

Leaf spots caused by pathogenic fungi may reduce the production of forage crops. The essential oils of medicinal plants show antimicrobial potential. This study aimed to evaluate the preventive and curative effect of essential oils on the anthracnose of sorghum and blotch of grass. To verify the preventive effect of the diseases, it was used a completely randomized factorial design with four replications, in which the factors were five kinds of oils (citronella, lemongrass, lemon balm, peppermint and neem) and four concentrations of the oils (0.25, 0.50, 0.75, and 1%). We used two witnesses, an absolute one (water application) and a relative one (thiophanate methyl application). For the curative effect of anthracnose, the factors were the five essential oils used in the preventive effect of the disease in two doses (0.25 and 0.50% v.v). To evaluate the curative effect of blotch of grass, we used the same design, treatment, dosage, and witnesses already described for preventive effect. The assessment of disease severity was performed by grading scale. In the preventive effect of anthracnose, both essential oils and concentrations evaluated reduced significantly the disease severity, especially lemongrass, lemon balm and neem oils. In the curative effect of anthracnose, the treatments of essential oils and thiophanate methyl reduced the severity, but showed no significant difference among themselves. For blotch grass, all essential oils and all concentrations tested reduced the disease severity in the preventive effect. In the curative effect, the treatments of essential oils and thiophanate methyl reduced the severity of blotch grass.

**Keywords:** Preventive effect, Curative effect, Severity of disease, *Colletotrichum graminicola* and *Helminthosporium* sp.

## INTRODUÇÃO

As manchas foliares, causadas por fungos fitopatogênicos, reduzem a área foliar da planta, podendo prejudicar sua taxa fotossintética. Essa perda da área foliar fotossintetizante pode reduzir a produção da cultura (Godoy et al., 2001).

Manchas foliares são muito comuns em gramíneas, e as forrageiras merecem destaque entre as espécies da família Poaceae. Espécies do gênero *Panicum*, uma das gramíneas mais

utilizadas como forragem para o gado (Batistoti et al., 2011), são ótimas opções para o consórcio com outras culturas, pois possuem um sistema radicular profundo e vigoroso, apresentando elevada tolerância à deficiência hídrica (Correia et al., 2011). Porém, doenças fúngicas podem afetar consideravelmente o desenvolvimento dessas plantas. Anjos et al. (2004) observaram infecções consideráveis do fungo *Bipolaris maydis* (sin. *Helminthosporium maydis*) em dois cultivares de *Panicum maximum* (Vendedor e Tanzânia).

Dentre as doenças que atacam a cultura do sorgo, ocasionando manchas foliares severas, a antracnose é a mais importante no Brasil. O agente causal *Colletotrichum graminicola* encontra-se disseminado pelas principais regiões produtoras de sorgo do País, limitando o desenvolvimento da cultura e ocasionando grandes perdas na produção de grãos (Costa et al., 2003).

Ao longo dos últimos anos, as tentativas de prevenir, controlar e erradicar doenças de plantas estão centralizadas no uso de produtos químicos sintéticos. Porém, o uso contínuo e indiscriminado de agrotóxicos causa uma série de problemas ambientais e à saúde humana, tais como a interrupção do controle biológico natural, uma vez que organismos não alvo podem ser afetados (Soylu et al., 2010), resistência pelos patógenos, ocasionando surtos de doenças (Lee et al., 2008) e contaminação de águas subterrâneas e superficiais (Fernandes Neto & Sarcinelli, 2009). Quanto à saúde humana, Faria et al. (2007) destacam que os agrotóxicos estão muitas vezes relacionados com intoxicações agudas, doenças crônicas e problemas reprodutivos.

Atualmente, com a crescente exigência por produtos vegetais livres de contaminação por resíduos químicos, métodos alternativos para o manejo de doenças estão sendo buscados (Carvalho et al., 2008; Celoto et al., 2011).

Nesse contexto, muitos estudos têm explorado produtos vegetais como pesticidas botânicos, pois são mais biodegradáveis que pesticidas sintéticos (Dan et al., 2010). A atividade biológica dos metabólitos secundários dos óleos essenciais apresenta potencial de controle alternativo de doenças de plantas (Souza-Júnior et al., 2009).

Óleo essencial de hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) apresenta alto potencial antimicrobiano contra os fitopatógenos *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Alternaria solani*, *A. alternata*, *Fusarium solani*, *Rhizopus solani* e *Rhizopus* spp. (Hussain et al., 2010). Medice et al. (2007) observaram que os óleos nim (*Azadirachta indica*) e citronela (*Cymbopogon nardus*) reduziram a germinação dos urediniosporos de *Phakopsora pachyrhizi*, agente causal da ferrugem asiática da soja. O óleo essencial de capim-limão (*C. citratus*) inibiu o

crescimento e a germinação de esporos do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Silva et al., 2009). Tagami et al. (2009) destacaram o potencial antifúngico de erva-cidreira (*Lippia alba*) sobre o crescimento micelial *in vitro* do fungo *C. graminicola*.

Considerando que as doenças antracnose do sorgo e helmintosporiose do capim Tanzânia são importantes no Brasil, e que os óleos essenciais de plantas medicinais apresentam potencial para o controle de fitopatógenos, objetivou-se avaliar o efeito preventivo e curativo dos óleos essenciais de citronela (*Cymbopogon nardus*), capim-limão (*C. citratus*), erva-cidreira (*Lippia alba*) e hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) e do óleo comercial de nim (*Azadirachta indica*) (NEEMAX®) sobre as doenças antracnose do sorgo e helmintosporiose do capim.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Cultivo das plantas, extração dos óleos, inoculação e avaliação**

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitopatologia e em casa de vegetação da Universidade Federal do Tocantins, Campus de Gurupi, TO.

Para a obtenção das plantas de sorgo (*Sorghum bicolor*) e capim (*Panicum maximum* cv. Tanzânia), foram utilizadas bandejas plásticas (42 x 27 x 7 cm) com quatro litros de substrato comercial Germinar® e 10 g de adubo NPK (5-25-15). Foram feitas quatro linhas por bandeja. Plantou-se 20 e 30 sementes por linha do sorgo 1F305 e do capim Tanzânia, respectivamente. Após a semeadura, as bandejas foram mantidas em casa de vegetação até o momento dos ensaios do efeito preventivo e curativo.

Para os ensaios foram utilizadas plantas de sorgo e de capim 24 e 30 dias após o plantio, respectivamente.

Para obtenção dos óleos essenciais, folhas de citronela (*Cymbopogon nardus*), capim-limão (*C. citratus*) e erva-cidreira (*Lippia alba*) foram desidratadas à temperatura ambiente. A extração foi realizada pelo método de hidrodestilação, utilizando o aparelho (Castro et al., 2010). Os sobrenadantes foram coletados e armazenados em frascos estéreis. O óleo essencial de hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) (DOKMOS - Cosméticos®) e óleo de nim (*Azadirachta indica*) (NEEMAX®) foram adquiridos no Mercado Municipal de Gurupi-TO.

Para a definição das concentrações dos óleos essenciais nos ensaios preventivos e curativos, testes preliminares de fitotoxicidade foram realizados, onde foram selecionadas doses não tóxicas às plantas.

Para a multiplicação dos inóculos de *Colletotrichum graminicola* e *Helminthosporium* sp. foram utilizadas placas de Petri de 90 x 15 mm com meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar).

Para a preparação da solução de esporos, foram adicionados em cada placa contendo o inóculo do fungo, 15 mL de água estéril. Com auxílio de um pincel de cerdas macias foi realizado o desprendimento do micélio. A solução foi filtrada em gaze e os esporos foram quantificados em câmara de Neubauer.

Três dias antes da inoculação dos esporos, foi realizada uma adubação de cobertura com 1% de uréia.

Após a inoculação do patógeno, as plantas foram mantidas, no Laboratório de Fitopatologia, em câmara úmida por 48 h, no escuro. Após o período de incubação, as plantas foram colocadas em ambiente natural para o desenvolvimento da doença.

A avaliação da severidade das doenças foi realizada por meio da escala de notas adotada por Santos et al. (2005) (0= planta sadia; 1= menos de 1% da área foliar doente; 3= 1 a 5 % da área foliar doente; 5= 6 a 25 % da área foliar doente; 7= 26 a 50 % da área foliar doente; 9= mais que 50% da área foliar doente).

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e regressão. No fator qualitativo, as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, e no fator quantitativo foram ajustadas equações de regressão com base no teste “t” dos coeficientes a 5% de probabilidade e no coeficiente de determinação ( $R^2$ ). As análises foram realizadas por meio do sistema computacional SAEG (Ribeiro Júnior & Melo, 2008).

### **Efeito de óleos essenciais sobre a antracnose do sorgo**

Para verificar o efeito preventivo da antracnose do sorgo foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial com quatro repetições, em que os fatores foram cinco tipos de óleos (citronela, capim-limão, erva-cidreira, hortelã-pimenta e nim comercial - NEENMAX®) e quatro concentrações dos óleos (0,25; 0,50; 0,75; e 1%). Como testemunhas utilizou-se plantas pulverizadas com água (absoluta) e também plantas pulverizadas com Tiofanato metílico a 1000 ppm (relativa). As plantas foram pulverizadas com 20 mL do tratamento e posteriormente foram inoculadas com 20 mL da solução de

esporos ( $1,8 \times 10^5$  esporos  $\text{mL}^{-1}$ ) de *C. graminicola*. A avaliação da severidade da antracnose do sorgo foi realizada 6 dias após a inoculação.

Para a avaliação do efeito curativo da antracnose, foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial com quatro repetições, em que os fatores foram os mesmos óleos utilizados no ensaio do efeito preventivo em duas doses (0,25 e 0,50% v.v.). Foram utilizadas as mesmas testemunhas descritas no ensaio preventivo. As plantas foram inoculadas com 20 mL da solução de esporos ( $5,5 \times 10^5$  esporos  $\text{mL}^{-1}$ ) de *C. graminicola*. Sete dias após a inoculação, com o aparecimento acentuado das lesões, foi realizada a avaliação da severidade da antracnose. Após a avaliação, as plantas foram pulverizadas com 20 mL de cada tratamento e foram mantidas em ambiente natural. O efeito curativo foi avaliado 10 dias após a pulverização dos tratamentos.

### **Efeito de óleos essenciais sobre a helmintosporiose do capim Tanzânia**

Para a avaliação do efeito preventivo e curativo da helmintosporiose do capim Tanzânia, utilizou-se o mesmo delineamento, óleos e concentrações usados no ensaio do efeito preventivo já descrito para o ensaio do sorgo.

No ensaio preventivo, as plantas foram pulverizadas com 20 mL do tratamento e posteriormente foram inoculadas com 20 mL da solução de esporos ( $1,1 \times 10^5$  esporos  $\text{mL}^{-1}$ ) do *Helminthosporium* sp. A severidade da helmintosporiose do capim Tanzânia foi avaliada 9 dias após a inoculação.

Para o efeito curativo, as plantas foram inoculadas com 20 mL da solução de esporos ( $1,09 \times 10^5$  esporos  $\text{mL}^{-1}$ ) de *Helminthosporium* sp. Quatro dias após a inoculação foi realizada a avaliação da severidade da helmintosporiose. Após a avaliação, as plantas foram pulverizadas com 20 mL dos tratamentos e foram mantidas em ambiente natural. O efeito curativo foi avaliado 15 dias após a pulverização dos tratamentos.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Efeito de óleos essenciais sobre a antracnose do sorgo**

As variações em função das fontes óleos essenciais, concentrações e interações entre eles foram significativas a 1% de probabilidade para o efeito preventivo da doença

antracnose. Para o efeito curativo, apenas a fonte de variação concentrações foi significativa para a doença avaliada (Tabela 1).

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância da severidade da antracnose do sorgo sob o efeito preventivo e curativo dos óleos essenciais de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), citronela (*C. nardus*), erva-cidreira (*Lippia alba*) e hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) e do óleo comercial de nim (*Azadirachta indica*).

Fontes de variação	Efeito preventivo		Efeito curativo	
	G.L. <sup>1</sup>	Q.M. <sup>2</sup>	G.L.	Q.M.
Óleos	4	6,16**	4	0,57 <sup>ns</sup>
Concentrações	4	115,36**	3	58,20**
Óleos x Conc.	16	2,11**	12	0,74 <sup>ns</sup>
Resíduos	75	0,04	60	0,63
C. V. <sup>3</sup>		5,78		17,88

\*\*Significativo a 1% de probabilidade; <sup>ns</sup>Não significativo; <sup>1</sup>G.L.: Grau de liberdade; <sup>2</sup>Quadrado médio; <sup>3</sup>C.V.: Coeficiente de variação.

No efeito preventivo da antracnose do sorgo, as plantas tratadas com o fungicida Tiofanato metílico não apresentaram sintomas da doença.

A Tabela 2 mostra as notas médias da severidade da antracnose, sob o efeito preventivo dos óleos essenciais. As testemunhas receberam nota 7 de severidade, o que significa que as plantas apresentaram entre 26 e 50% de área foliar doente. Sob a concentração de 0,75% dos óleos essenciais de capim-limão, erva-cidreira e nim comercial, as plantas apresentaram menos de 1% da área foliar doente (nota 1). As plantas submetidas à concentração de 1% do óleo essencial de capim-limão, assim como aquelas submetidas ao fungicida tiofanato metílico, não apresentaram sintomas da doença (nota 0).

A eficiência antimicrobiana do óleo essencial de capim-limão também foi verificada por Bankole & Joda (2004). Os autores observaram inibição da proliferação de espécies de *Aspergillus* em sementes de melão tratadas com 1% do óleo essencial de *C. citratus*, sendo que esse resultado foi equiparado ao efeito do fungicida Iprodione. Carnellosi et al. (2009) observaram menor área abaixo da curva de progresso da doença antracnose do mamão, agente causal *Colletotrichum gloeosporioides*, quando os frutos foram tratados com 1% do óleo de capim-limão.

**Tabela 2.** Severidade da antracnose sob o efeito preventivo de óleos essenciais aplicados em quatro doses em plantas de sorgo inoculadas com o fungo *Colletotrichum graminicola*.

Óleo essencial	Concentração (%) <sup>1</sup>					Equação de regressão	R <sup>2</sup>
	0,00	0,25	0,50	0,75	1,00		
Citronela	7a	5,5a	3b	3a	1a	$\hat{y}=6,80-0,029C^{**}$	0,92
Capim-limão	7a	5b	3b	1b	0b	$\hat{y}=6,80-0,036C^{**}$	0,99
Erva-cidreira	7a	5b	3b	1b	1a	$\hat{y}=5,80-0,028C^{**}$	0,82
Hortelã-pimenta	7a	3c	5a	3a	1a	$\hat{y}=7,00-0,028C^{**}$	0,94
Nim	7a	3c	3b	1b	1a	$\hat{y}=5,80-0,028C^{**}$	0,82

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P > 0,05); \*\*Significativo a 1% de probabilidade pelo teste “t”.

O óleo de nim também foi eficiente na prevenção do oídio do feijoeiro, agente causal *Erysiphe polygoni*. As concentrações 0,5, 1 e 1,5% reduziram o número médio de lesões nas folhas (Carneiro et al., 2007).

Foi observado, com o ajuste da regressão linear, que com o aumento da concentração dos óleos as notas da severidade da antracnose diminuíram (Tabela 2). Abdolahi et al. (2010) verificaram que o aumento das doses dos óleos essenciais de ajovan (*Carum copticum*) e erva-doce (*Foerriculum vulgare*) reduziu a severidade e a quantidade de frutos do tomateiro infectados por *Alternaria alternata*.

É importante ressaltar que com relação ao efeito preventivo, para as plantas de sorgo, as concentrações de 0,75 e 1% dos óleos essenciais apresentaram fitotoxicidade. Esse resultado foi levado em consideração para o estudo do efeito curativo. O óleo menos fitotóxico foi o de erva-cidreira, o que o torna um composto em potencial para o controle alternativo da antracnose.

Fitotoxicidade de óleos essenciais foram observadas em outros estudos. Óleo de nim nas concentrações de 1 e 1,5% foram fitotóxicos para plantas do feijoeiro (Pignoni & Carneiro, 2005; Carneiro et al., 2007). Carneiro (2003) também observou fitotoxicidade do óleo de nim em tomateiros tratados com 1 e 2% do óleo. Medice et al. (2007) reduziram as concentrações dos óleos essenciais de tomilho (*Thymus vulgaris*) e citronela (*C. nardus*) de 1% para 0,3 e 0,5%, respectivamente, para evitar fitotoxicidade em plantas da soja. Concentrações de 2, 6 e 8% do óleo essencial de citronela foram altamente tóxicas para plantas de arroz (Perini et al., 2011).

De acordo com Carneiro (2003), as reações de fitotoxicidade dependem da espécie da planta na qual o óleo está sendo aplicado, sua idade e estágio de desenvolvimento.

No efeito curativo, antes das aplicações dos tratamentos, as plantas apresentavam entre 1 e 5% da área foliar doente, recebendo assim, nota 3 para a severidade da antracnose.

Como não houve interação entre os óleos essenciais e os tratamentos utilizados, os efeitos foram estudados isoladamente e, por meio do teste Tukey (5%), as notas gerais foram comparadas (Tabela 3).

Os resultados apresentados na Tabela 3 revelam que não houve diferença significativa entre os óleos essenciais avaliados no efeito curativo da antracnose.

**Tabela 3.** Severidade da antracnose sob o efeito curativo de óleos essenciais aplicados em duas doses em plantas de sorgo inoculadas com o fungo *Colletotrichum graminicola*.

Óleo essencial	T1	T2	OE (0,25%)	OE (0,50%)	Comparações
Citronela	7	3,5	5	3,5	4,75a
Capim-limão	7	3,5	3	4	4,37a
Erva-cidreira	7	3,5	3,5	3,5	4,37a
Hortelã-pimenta	7	3,5	4	3,5	4,50a
Nim	7	3,5	3,5	3	4,25a
Comparações	7A	3,5B	3,8B	3,5B	

\*Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ). T1 – aplicação de água; T2 – aplicação de Tiofanato metílico a 1000 ppm.

As concentrações de 0,25 e 0,50 dos óleos de citronela, capim-limão, erva-cidreira, hortelã-pimenta e nim e o fungicida Tiofanato metílico reduziram significativamente a severidade da antracnose do sorgo, visto que, ao contrário da testemunha absoluta, em que a doença progrediu para a nota 7, as notas se mantiveram próximas a nota inicial (Tabela 3).

Alguns estudos mostram a ação *in vivo* de extratos e óleos essenciais sobre outras espécies do gênero *Colletotrichum*. Carvalho et al. (2008) avaliando o efeito curativo dos extratos aquosos de capim-limão na antracnose do pimentão, causada pelos fungos *Colletotrichum martinii* e *C. gloeosporioides*, observaram que o extrato aquoso não foi eficiente na redução da doença. Extrato aquoso de eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) reduziu o número de lesões em folhas de pepino, inoculadas com *C. lagenarium* (Bonaldo et al., 2004).

Óleo essencial de pimenta-de-macaco (*Piper aduncum*) (1%) inibiu a manifestação de podridões nos frutos de banana por *C. musae* (Bastos & Albuquerque, 2004). Carré et al. (2006) observaram redução de até 66% da severidade da antracnose da banana (*C. musae*) pelo óleo essencial de cânfora (*Artemisia camphorata*).

Com os resultados apresentados, observou-se que o efeito preventivo dos óleos sobre a antracnose do sorgo foi mais eficiente que o efeito curativo. Celoto et al. (2011), utilizando extrato de melão-de-são-caetano (*Momordica charantia*) sobre a antracnose da banana, também observaram que as aplicações do óleo antes da inoculação do fungo *C. musae* foram mais eficientes na redução da doença que as aplicações realizadas após a inoculação do patógeno. Diferentemente, Soylu et al. (2010) verificaram que o efeito curativo do óleo essencial de orégano, sobre o mofo cinzento do tomate, agente causal *Botrytis cinerea*, reduziu significativamente mais a doença que o efeito preventivo.

#### **Efeito de óleos essenciais sobre a helmintosporiose do capim Tanzânia**

A análise de variância da severidade da helmintosporiose do capim sob o efeito preventivo e curativo dos óleos essenciais de citronela, capim-limão, erva-cidreira e hortelã-pimenta, revelou que somente as variações em função da fonte concentrações foram significativas a 1% de probabilidade. As variações das fontes óleos essenciais e a interação entre os óleos e as concentrações não foram significativas (Tabela 4).

**Tabela 4.** Resumo da análise de variância da severidade da helmintosporiose do capim Tanzânia sob o efeito preventivo e curativo dos óleos essenciais (OE) de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), citronela (*C. nardus*), erva-cidreira (*Lippia alba*) e hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) e do óleo comercial de nim (*Azadirachta indica*).

Fontes de variação	Efeito preventivo		Efeito curativo	
	G.L. <sup>1</sup>	Q.M. <sup>2</sup>	G.L.	Q.M.
Óleos	4	1,06 <sup>ns</sup>	4	0,37 <sup>ns</sup>
Concentrações	4	52,76**	5	46,64**
Óleos x Conc.	16	0,61 <sup>ns</sup>	20	0,11 <sup>ns</sup>
Resíduos	75	0,44	90	0,47
C. V. <sup>3</sup>	16,02		17,52	

\*\*Significativo a 1% de probabilidade; <sup>ns</sup>Não significativo; <sup>1</sup>G.L.: Grau de liberdade;

<sup>2</sup>Quadrado médio; <sup>3</sup>C.V.: Coeficiente de variação.

Assim como na antracnose do sorgo, no efeito preventivo da helmintosporiose do capim Tanzânia, as plantas tratadas com o fungicida tiofanato metílico não apresentaram sintomas da doença.

Os resultados do efeito preventivo dos óleos essenciais sobre a helmintosporiose do capim Tanzânia (Tabela 5) mostram que todos os óleos avaliados reduziram a severidade da doença.

A ação *in vivo* de extratos e óleo essencial de capim-limão e citronela foi observada em outros estudos. Itako et al. (2009) verificaram o efeito preventivo do extrato aquoso de capim-limão sobre o fungo *Cladosporium fulvum* do tomateiro, e observaram redução significativa das lesões das folhas. Medice et al. (2007) verificaram redução de até 66,77% da severidade da ferrugem asiática da soja, agente causal *Phakopsora pachyrhizi*, com o uso do óleo essencial de citronela. A eficiência do efeito preventivo do óleo essencial de citronela também foi verificada por Pereira et al. (2011). O óleo de citronela reduziu a incidência da cercosporiose do cafeeiro, agente causal *Cercospora coffeicola*.

**Tabela 5.** Severidade da helmintosporiose sob o efeito preventivo de óleos essenciais aplicados em quatro doses em plantas de capim Tanzânia inoculadas com o fungo *Helminthosporium* sp.

Óleo essencial	Concentrações (%)					Equação de regressão	R <sup>2</sup>
	0,00	0,25	0,50	0,75	1,00		
Citronela	7a	3,5ab	3,5ab	3,5a	3a	$\hat{y}=5,70-0,016C^{**}$	0,49
Capim-limão	7a	4,5a	3,5ab	3a	3a	$\hat{y}=6,10-0,019C^{**}$	0,70
Erva-cidreira	7a	4,5a	4,5a	3,5a	3a	$\hat{y}=6,30-0,018C^{**}$	0,69
Hortelã-pimenta	7a	3,5ab	3b	3a	3a	$\hat{y}=5,60-0,017C^{**}$	0,56
Nim	7a	3b	3,5ab	3a	3,5a	$\hat{y}=\bar{x}=4$	-

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P > 0,05). \*\*Significativo a 1% de probabilidade pelo teste “t”.

Sob a concentração de 0,25% do óleo comercial de Nim, as plantas apresentaram nota de severidade significativamente menor que aquelas tratadas com o óleo essencial de capim-limão e erva-cidreira (Tabela 5). A ação preventiva do óleo de nim foi verificada por Carneiro et al. (2008). Os autores observaram que óleo de nim foi eficiente no controle da mancha angular, agente causal *Phaeoisariopsis griseola*, do feijoeiro.

O óleo essencial de hortelã-pimenta, na concentração de 0,50%, foi mais eficiente na redução da severidade da helmintosporiose do capim que o óleo essencial de erva-cidreira na mesma concentração (Tabela 5). A ação antimicrobiana *in vivo* do óleo essencial de hortelã-pimenta foi observada por Fatemi et al. (2011). O óleo essencial foi eficiente na redução da decomposição de laranjas (*Citrus sinensis*) provocadas por espécies de *Penicillium*.

Não houve diferença significativa entre as notas médias de severidade da doença quando as plantas foram submetidas às concentrações de 0,75 e 1% dos óleos essenciais avaliados. O aumento da concentração dos óleos não reduziu a nota da severidade (Tabela 5).

Como não houve interação entre os óleos essenciais e as concentrações, os efeitos curativos foram estudados isoladamente e, por meio do teste Tukey (5%), as médias gerais foram comparadas (Tabela 6).

**Tabela 6.** Severidade da helmintosporiose sob o efeito curativo de óleos essenciais aplicados em quatro doses em plantas de capim Tanzânia inoculadas com o fungo *Helminthosporium* sp.

Óleo essencial	T1	T2	Concentração – OE (%)				Comparações
			0,25	0,50	0,75	1	
Citronela	7	3,5	3,5	3,5	3	3	3,92a
Capim-limão	7	3,5	3	3	3	3	3,75a
Erva-cidreira	7	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	4,08a
Hortelã-pimenta	7	3,5	3,5	3,5	3	3	3,92a
Nim	7	3,5	3	3,5	3	3	3,83a
Comparações	7A	3,5B	3,3B	3,4B	3,1B	3,1B	

\*Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ); T1 – aplicação de água; T2 – aplicação de Tiofanato metílico a 1000 ppm.

As comparações das médias gerais das notas obtidas nos óleos essenciais mostram que não houve diferença significativa entre eles. Quanto às comparações das concentrações, pode-se observar que os óleos essenciais de citronela, capim-limão, erva-cidreira, hortelã-pimenta e o óleo nim, nas concentrações de 0,25, 0,50, 0,75 e 1%, e o fungicida tiofanato metílico reduziram significativamente as notas de severidade da helmintosporiose do capim, uma vez que apenas na testemunha absoluta a doença progrediu para a nota 7 (Tabela 6).

O efeito curativo do óleo de nim foi verificado por Carneiro (2003). O autor observou controle do oídio do tomateiro, *Oidium lycopersici*, utilizando concentrações de 0,25 a 2% do óleo de nim.

Perini et al. (2011) verificando o efeito curativo do óleo de citronela sobre a brusone do arroz, agente causal *Pyricularia grisea*, observaram redução de até 50% do número de plantas com sintomas da doença.

A ação *in vivo* de extratos vegetais sobre outra espécie de *Helminthosporium* foi observada por Franzener et al. (2003). Os autores verificaram a ação do extrato aquoso de cânfora sobre a mancha marrom do trigo, causada pelo fungo *Bipolaris sorokiniana* (sin. *Helminthosporium sorokiniana*), e observaram redução significativa no número e no tamanho das lesões.

O uso de óleos essenciais como agentes antimicrobianos é considerado um risco baixo, pois acredita-se que é difícil um patógeno desenvolver resistência a complexa mistura de componentes ativos que compoem esses óleos (Derbalah et al., 2011). De acordo com Al-Reza et al. (2010) os óleos essenciais são promissores agentes antifúngicos com potencial para as agroindústrias, uma vez que seus compostos ativos podem apresentar diferentes formas de invasão para inibir o desenvolvimento de fitopatogênicos.

Esse trabalho mostrou a eficiência dos óleos de capim-limão (*C. citratus*), citronela (*C. nardus*), erva-cidreira (*L. alba*), hortelã-pimenta (*M. piperita*) e nim (*A. Indica*) na redução da severidade da antracnose do sorgo e helmintosporiose do capim. Assim, conclui-se que esses óleos essenciais podem ser uma alternativa aos fungicidas sintéticos e uma ferramenta destaque no manejo integrado de doenças.

## REFERÊNCIAS

ABDOLAH, A.; HASSANI, A.; GHOSTA, Y.; JAVADI, T.; MESHKATALSADAT, M. H. Essential oils as control agents of postharvest *Alternaria* and *Penicillium* rots on tomato fruits. **Journal of Food Safety**, v. 30, p. 341–352, 2010.

AL-REZA, S. M.; RAHMAN, A.; AHMED, Y.; KANG, S. C. Inhibition of plant pathogens in vitro and in vivo with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 96, p. 86-92, 2010.

ANJOS, J. R. N.; CHARCHAR, M. J. A.; TEIXEIRA, R. N.; ANJOS, S. S. N. Ocorrência de *Bipolaris maydis* causando mancha foliar em *Paspalum atratum* cv. Pojuca no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 6, p. 656-658, 2004.

BANKOLE, S. A.; JODA, A. O. Effect of lemon grass (*Cymbopogon citratus* Stapf) powder and essential oil on mould deterioration and aflatoxin contamination of melon seeds (*Colocynthis citrullus* L.). **African Journal of Biotechnology**, v. 3, n. 1, p. 52-59, 2004.

BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, P. S. B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotricum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, v. 9, n.5, p. 555-557, 2004.

BATISTOTI, C.; LEMPP, B.; JANK, L.; MORAIS, M. G.; CUBAS, A. C.; GOMES, R. A.; FERREIRA, M. V. B. Correlations among anatomical, morphological, chemical and agronomic characteristics of leaf blades in *Panicum maximum* genotypes. **Animal Feed Science and Technology**, v. 171, p. 173-180, 2011.

BONALDO, S. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; TESSMANN, D. J. SCAPIM, C. A. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 128-134, 2004.

CARNEIRO, S. M. T. P. G. Efeito de extratos de folhas e do óleo de nim sobre o oídio do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v. 29, n. 3, p. 262-265, 2003.

CARNEIRO, S. M. T. P. G.; PIGNONI, E.; GOMES, J. C. Efeito do nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) no controle da mancha angular do feijoeiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 10, n. 3, p. 6-10, 2008.

CARNEIRO, S. M. T. P. G.; PIGNONI, E.; VASCONCELLOS, M. E. C.; GOMES, J. C. Eficácia de extratos de nim para o controle do oídio do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 1, p. 34-39, 2007.

CARNELOSSI, P. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; MESQUINI, R. M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.11, n.4, p. 399-406, 2009.

CARRÉ, V.; STANGARLIN, J. R.; BECKER, A.; ZANELLA, A. L.; GONÇALVEZ JR., A. C.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; FRANZENER, G.; CRUZ, M. E. S. Controle pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana (*Musa* sp.) por cânfora (*Artemisia camphorata*) e quitosana. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 5, n. 1, p. 57-66, 2006.

CARVALHO, J. B.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; BONALDO, S. M.; CRUZ, M. E. S.; CARLOS, M. M.; STANGARLIN, J. R. Fungitoxicidade de *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon martinii* a *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de pimentão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.10, n.1, p.88-93, 2008.

CASTRO, H. G.; PERINI, V. B. M.; SANTOS, G. R.; LEAL, T. C. A. B. Avaliação do teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.) em diferentes épocas de colheita. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 2 p. 308-314, 2010.

CELOTO, M. I. B.; PAPA, M. F. S.; SACRAMENTO, L. V. S.; CELOTO, F. J. Atividade antifúngica de extratos de *Momordica charantia* L. sobre *Colletotrichum musae*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.13, n.3, p.337-341, 2011.

CORREIA, N. M.; LEITE, M. B.; DANIEL, B. Efeito do consórcio de milho com *Panicum maximum* na comunidade infestante e na cultura da soja em rotação. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 29, n. 3, p. 545-555, 2011.

COSTA, R. V.; CASELA, C. R.; ZAMBOLIM, L.; FERREIRA, A. S. A antracnose do sorgo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 345-354, 2003.

DAN, Y.; LIU, H. Y.; GAO, W. W.; CHEN, S. L. Activities of essential oils from *Asarum heterotropoides* var. *mandshuricum* against five phytopathogens. **Crop Protection**, v. 29, p. 295-299, 2010.

DERBALAH, A. S.; DEWIR, Y. H.; EL-SAYED, A. E. Antifungal activity of some plant extracts against sugar beet damping-off caused by *Sclerotium rolfsii*. **Annals of Microbiology**, 2011.

FARIA, N. M. X.; FASSA, A. G.; FACCHINI, L. Intoxicação por agrotóxicos no Brasil: os sistemas oficiais de informação e desafios para realização de estudos epidemiológicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, n. 1, p. 25-38, 2007.

FATEMI, S.; JAFARPOUR, M.; EGHBALSAIED, S.; REZAPOUR, A.; BORJI, H. Effect of essential oils of *Thymus vulgaris* and *Mentha piperita* on the control of green mould and postharvest quality of *Citrus Sinensis* cv. Valencia. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 66, p. 14932-14936, 2011.

FERNANDES NETO, M.; SARCINELLI, P. N. Agrotóxicos em água para consumo humano: uma abordagem de avaliação de risco e contribuição ao processo de atualização da legislação brasileira. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 14, n. 1, p. 69-78, 2009.

FRANZENER, G.; STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S. Atividade antifúngica e indução de resistência em trigo a *Bipolaris sorokiniana* por *Artemisia camphorata*. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 25, n. 2, p. 503-507, 2003.

GODOY, C. V.; AMORIM, L.; FILHO, A. B. Alterações na fotossíntese e na transpiração de folhas de milho infectadas por *Phaeosphaeria maydis*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 209-213, 2001.

HUSSAIN, A.; ANWAR, F.; NIGAM, P. S.; ASHRAF, M.; GILANI, A. H. Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, p. 1827-1836, 2010.

ITAKO, A. T.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; TOLENTINO JÚNIOR, J. B.; SILVA CRUZ, M. E. Controle de *Cladosporium fulvum* em tomateiro por

extratos de plantas medicinais. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, n.1, p.75-83, 2009.

LEE, Y.; KIM, J.; SHIN, S.; LEE, S.; PARK, I. I. Antifungal activity of Myrtaceae essential oils and their components against three phytopathogenic fungi. **Flavour Fragrance Journal**, v. 23, p. 23-28, 2008.

MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R. T.; JUNIOR, R. G. M.; LOPES, E. A. G. L. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *phakopsora pachyrhizi* syd. & p. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras: v. 31, n. 1, p. 83-90, 2007.

PEREIRA, R. B.; LUCAS, G. C.; PERINA, F. J.; RESENDE, M. L. V.; ALVES, E. Potential of essential oils for the control of brown eye spot in coffee plants. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 1, p. 115-123, 2011.

PERINI, V. B. M.; CASTRO, H. G.; SANTOS, G. R.; AGUIAR, R. W. S.; LEÃO, E. U. SEIXAS, P. T. Avaliação do efeito curativo e preventivo do óleo essencial do capim citronela no controle de *Pyricularia grisea*. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 2, n. 2, p. 23-27, 2011.

PIGNONI, E.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Severidade da antracnose em feijoeiro e pinta preta em tomateiro sob diferentes concentrações de óleo de nim em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.8, n.1, p.68-72, 2005.

RIBEIRO JÚNIOR, J. I.; MELO, A. L. P. **Guia Prático para Utilização do SAEG**. Viçosa: UFV, 2008. 288p.

SANTOS, G. R.; CAFÉ-FILHO, A. C.; LEÃO, F. F.; CÉSAR, M.; FERNANDES, L. E. Progresso do crestamento gomoso e perdas na cultura da melancia. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 228-232, 2005.

SILVA, A. C.; SALES, N. L. P.; ARAÚJO, A. V.; CALDEIRA JÚNIOR, C. F. Efeito *in vitro* de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. isolado do

maracujazeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, Edição Especial, p. 1853 -1860, 2009.

SOUZA JÚNIOR, I. T.; SALES, N. L. P.; MARTINS, E. R. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. **Revista Biotemas**, v. 22, n. 3, p. 77-83, 2009.

SOYLU, E. M.; KURT, S.; SOYLU, S. *In vitro* and *in vivo* antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 143, p. 183-189, 2010.

TAGAMI, O. K.; GASPARIN, M. D. G.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; TOLENTINO JÚNIOR, J. B.; MORAES, L. M.; STANGARLIN, J. R. Fungitoxidade de *Bidens pilosa*, *Thymus vulgaris*, *Lippia alba* e *Rosmarinus officinalis* no desenvolvimento in vitro de fungos fitopatogênicos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 285-294, 2009.