



XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA Instituto Agronômico - Campinas, SP

7 a 9 de Fevereiro de 2017

EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DE MELALEUCA SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL DO *Stemphylium* sp., AGENTE ETIOLÓGICO DA QUEIMA-DE-ESTENFÍLIO NA CULTURA DA CEBOLA

Flávia de Oliveira Borges Costa Neves¹, Márcia Toyota Pereira², Igor Souza Pereira³

¹Graduanda de Eng. Agrônoma do Instituto Federal do Triângulo Mineiro, Campus Uberlândia, MG flavia_borges.costa@hotmail.com ²Profa. da Faculdade Presidente Antônio Carlos (FUPAC), Uberlândia, MG. ³Prof. Do Instituto Federal do Triângulo Mineiro, Campus Uberlândia, MG igor@iftm.edu.br

RESUMO - Em decorrência dos problemas ocasionados pelo uso intensivo de agrotóxicos na cebolicultura, torna-se importante buscar medidas alternativas no manejo de doenças nessa cultura por meio do uso de produtos naturais que sejam eficientes e de baixo impacto ambiental. Recentemente foi verificada a ocorrência de queima-de-estenfílio na cebola na Região do Alto Paranaíba. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do óleo de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), sob diferentes concentrações (0,0; 0,2; 0,4; 0,6 e 0,8%), no índice de velocidade de crescimento micelial de *Stemphylium* spp., isolados de cebola. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com cinco tratamentos, constituído por cinco concentrações do óleo de e cinco repetições. O óleo de melaleuca foi incorporado ao meio de BDA à temperatura de 45 °C, após diluições em série nas concentrações de trabalho. Utilizou-se a análise de variância pelo teste de F a 5% de probabilidade, por meio do software Sisvar®, aplicando-se regressão da curva de IVC. O óleo essencial de melaleuca reduziu significativamente o crescimento micelial de *Stemphylium* spp., ajustando-se à equação quadrática $y = 28,074x^2 - 46,136x + 19,94$. Conclui-se que o óleo de *M. alternifolia* adicionado ao meio de cultura foi capaz de reduzir o IVC, podendo representar alternativa promissora para futuros trabalhos, focando-se o manejo desse patógeno.

Palavras-chave: produto alternativo, *Melaleuca alternifolia*, *Allium cepa*

INTRODUÇÃO

Em decorrência dos problemas ocasionados pelo uso intensivo de agrotóxicos torna-se imprescindível buscar medidas alternativas de manejo de doenças por meio do uso de produtos naturais que podem se tornar eficientes e de baixo impacto ambiental (SILVA et al., 2005), especialmente na produção de olerícolas.

Dentre as olerícolas que são dependentes de agrotóxicos destaca-se a cebola (*Allium cepa* L.), que está sujeita a uma série de doenças. Algumas destas doenças podem causar grandes perdas, tornando-se fatores limitantes ao cultivo se medidas de controle adequadas não forem adotadas. Dentre essas doenças destacam-se as de etiologia fúngica como a queima-de-estenfílio, causada por *Stemphylium* spp. (CHAPUT, 1995; MILLER & LACY, 1995). A queima-de-estenfílio ou mofo-preto tem sido registrado em vários países, com



XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA

Instituto Agrônômico - Campinas, SP

7 a 9 de Fevereiro de 2017

frequentes epidemias na América do Norte, África e Índia. Há autores que, inclusive, tratam a mancha-púrpura como sendo causada por *A. porri* e por *Stemphylium vesicarium*, por possuir sintomas muito semelhantes (REIS & HENZ, 2009; BOITEUX et al., 1994).

Sendo considerada uma doença secundária na cultura do alho e cebola, seus sintomas se apresentam como pequenas manchas amareladas a laranja-pálidas no meio da folha, evoluindo para formas alongadas, ovaladas a fusiformes e difusas em suas margens. Algumas vezes as lesões são marrom-claras a castanhas, no centro, tornando-se marrom-oliva-escuras a pretas, pela formação dos conídios. Ao final as manchas coalescem e as folhas adquirem um aspecto necrosado com consistência seca (MILLER & LACY, 1995; REIS & HENZ, 2009).

O manejo recomendado para essa doença é o uso de práticas culturais, pois não há atualmente no país, fungicidas registrados para o controle de *Stemphylium* spp. na cultura da cebola. O controle químico que há, é decorrente das aplicações de fungicidas utilizados preventivamente para outras doenças que ocorrem na cultura, especialmente a mancha púrpura, em que há o uso de agrotóxicos já registrados (MASSOLA JR et al., 2005).

Como forma de manejo promissora destaca-se o uso de produtos alternativos, com propriedades antifúngicas, como por exemplo, os óleos essenciais.

Os óleos essenciais (OE) de plantas vêm sendo usados no manejo a fungos deterioradores há séculos (BULLERMAN et al., 1977), eles constituem os elementos voláteis em muitos órgãos vegetais, e estão relacionados com diversas funções necessárias à sobrevivência vegetal, exercendo papel fundamental na defesa contra microrganismos (SIQUI et al., 2000).

A atividade antifúngica dos óleos essenciais de várias espécies do gênero *Lippia* já havia sido relatada (OLIVEIRA et al., 2007; HENEBELLE et al., 2008), mas a espécie *Lippia citriodora* foi a primeira a ser relatada pelo estudo de Correa-Royero et al. (2010) no controle de doenças fúngicas. Desta forma, algumas plantas medicinais tradicionais vêm sendo usadas por pesquisadores na avaliação de sua capacidade antifúngica, antiaflatoxicogênica e antioxidante (KUMAR et al., 2007).

A *Melaleuca alternifolia* Cheel, pertencente à família das mirtáceas (*Myrtaceae*), é comumente conhecida na Austrália como “árvore de chá” (VIEIRA et al., 2004). Seu principal produto é o óleo essencial, de grande importância medicinal, pois possui comprovada ação bactericida e antifúngica contra vários patógenos humanos (CASTRO et al., 2005).



XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA Instituto Agronômico - Campinas, SP

7 a 9 de Fevereiro de 2017

Segundo Martins (2010), o óleo de melaleuca é reconhecido pela atividade biológica de compostos secundários presentes no extrato de plantas que pode constituir, em uma forma efetiva de controle de doenças em plantas cultivadas.

Assim, o objetivo deste trabalho foi realizar controle alternativo, com o uso de óleo de *M. alternifolia*, na queima-de-estenfilio na cultura da cebola, causada pelo fungo *Stemphylium* spp., avaliando-se o crescimento micelial, *in vitro* e em meio de cultura.

MATERIAL E MÉTODOS

As folhas de cebola doente, com sintomas de lesões, foram coletadas e cortadas em pequenos pedaços com um bisturi e desinfetados por meio de imersão, durante 5 minutos, em uma solução de hipoclorito de sódio 0,25%, depois lavada com água destilada esterilizada para remover o excesso de hipoclorito e, finalmente, deixado escorrer o excesso de água, colocando-os em papel absorvente esterilizado. Pedacos de tecidos desinfestados foram colocados em placas de Petri estéreis, onde o patógeno obtido (*Stemphylium* spp.) foi mantido em tubo inclinado com meio de cultura de batata-dextrose-ágar (BDA), a 24 °C no Laboratório de Pesquisa do IFTM, Campus Uberlândia para multiplicação.

O óleo essencial de *M. alternifolia* foi obtido em farmácia de manipulação e incorporado ao meio de BDA à temperatura de 45 °C, após diluições em série nas seguintes concentrações: 0,0; 0,2; 0,4; 0,6 e 0,8%. Discos de 0,6 cm de diâmetro contendo colônias puras do fungo *Stemphylium* spp. foram transferidos para o centro da placa de Petri, com os seus respectivos tratamentos e estas foram armazenadas em câmara de crescimento a 25 ± 1 °C e fotoperíodo de 12 horas, durante um período de 11 dias.

Após 24 horas da montagem do experimento, foram realizadas diariamente as avaliações do IVCN, até as colônias do tratamento testemunha atingirem toda a superfície do meio de cultura. A avaliação foi feita com medições do diâmetro das colônias, por meio de paquímetro digital.

A avaliação do crescimento micelial foi feita através da medição do diâmetro das colônias, em posição transversal e meridional com paquímetro digital, a cada 24 horas, durante onze dias, a partir do momento em que foi colocado o disco de micélio com os isolados no meio de cultura. Esses dados foram utilizados no cálculo do índice de velocidade de crescimento micelial, conforme a fórmula descrita por Oliveira (1991):

$$\text{IVCM} = \Sigma (D - D_a) / N,$$



XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA

Instituto Agronômico - Campinas, SP

7 a 9 de Fevereiro de 2017

Sendo:

IVCM= índice de velocidade de crescimento micelial

D= diâmetro médio atual da colônia

Da= diâmetro médio da colônia do dia anterior

N= número de dias após a inoculação

O delineamento experimental utilizado foi em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) com cinco tratamentos e cinco repetições. Em seguida foi utilizada a análise de variância pelo teste de F a 5% de probabilidade por meio do software SISVAR® (FERREIRA, 2000), aplicando-se regressão do IVCM.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O óleo essencial de melaleuca reduziu significativamente o crescimento micelial de *Stemphylium* spp. A redução do crescimento micelial medido pelo IVCM em função da concentração do óleo de melaleuca foi melhor ajustada ao modelo quadrático (Figura 1). Não sendo possível, porém, observar a inibição do crescimento micelial até a maior dose testada.

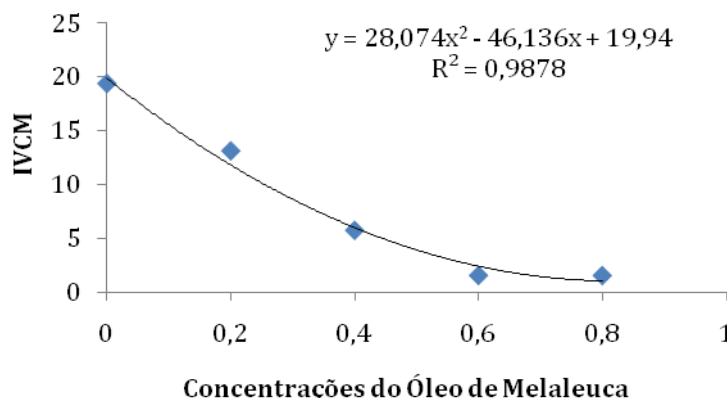


Figura 1. Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Stemphylium* spp., isolados de cebola, em função das concentrações propostas. IFTM, Uberlândia, 2016.

Segundo Martins et al. (2010), os fungos *A. alternata*, *M. phaseolina* e *S. sclerotiorum* apresentaram sensibilidade ao óleo de melaleuca na concentração de 0,2%, Concha et al. (1998), também relata que o óleo de melaleuca no controle contra *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp., entre outros obtiveram uma atividade antimicrobiana significativa, sugerindo que o óleo pode ser útil no tratamento de infecções fúngicas.



XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA

Instituto Agronômico - Campinas, SP

7 a 9 de Fevereiro de 2017

Martins et al. (2010) ainda relata em seu trabalho que, as inibições do crescimento micelial em função das concentrações do óleo de melaleuca foram melhores ajustadas ao modelo quadrático, inferindo que a concentração que melhor se ajustou no controle dos fungos fitopatogênicos foi de 0,4%, contribuindo para um menor índice de crescimento micelial dos fungos testados.

A partir do IVCM foi realizado comparação de médias utilizando-se o teste de Tukey para melhor distinção das concentrações realizadas do óleo de melaleuca (Tabela 1).

Tabela 1. Efeito do óleo de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) sobre o índice de velocidade média de crescimento (IVCM) de *Stemphylium* spp., isolados de cebola. IFTM, Uberlândia, 2016.

Tratamento	IVCM	
Óleo de <i>M. alternifolia</i> (0,8%)	1.484100	a
Óleo de <i>M. alternifolia</i> (0,6%)	1.488120	a
Óleo de <i>M. alternifolia</i> (0,4%)	4.554900	b
Óleo de <i>M. alternifolia</i> (0,2%)	13.090540	c
Testemunha	19.359640	d
CV (%) =	17.77	
Média geral =	7.99	

Médias seguidas pela mesma letra não diferem ao nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Os tratamentos nas concentrações de 0,8% e 0,6% diferiram dos demais tratamentos e da testemunha, apresentando menores IVCM. Efeito intermediário foi verificado para o tratamento na concentração de 0,4%, diferindo significativamente dos demais tratamentos. Para o tratamento na concentração de 0,2%, a eficiência sobre o crescimento micelial do fungo foi menor que os tratamentos nas demais concentrações, porém apresentou maior IVCM em relação à testemunha (Tabela 1).

O óleo essencial de melaleuca pode representar uma alternativa ecologicamente viável de controle de doenças de plantas, devido a sua composição de compostos secundários presentes no extrato de plantas. Existem poucos relatos na literatura sobre estudos realizados usando óleo de *M. alternifolia*, para controle de microrganismos fitopatogênicos.

Os estudos disponíveis aplicam-se basicamente ao controle de doenças humanas e de outros animais (MARTINS et al., 2010). A exploração da atividade biológica de compostos derivados do metabolismo secundário das plantas, como alcalóides, terpenóides e derivados de fenilpropanóides, presentes no extrato bruto ou em óleos essenciais de plantas, pode se constituir em uma forma efetiva de controle de doenças em plantas cultivadas (SILVA et al., 2005).



XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA

Instituto Agronômico - Campinas, SP

7 a 9 de Fevereiro de 2017

Desta forma, pode-se afirmar que o óleo essencial utilizado possui efeito fungicida no controle do *Stemphylium* spp. *in vitro*, o que pode estar relacionado à presença de componentes majoritários em sua composição química, como o terpinem 4 -ol (VIEIRA et al., 2004).

CONCLUSÃO

O uso do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* mostrou-se efetivo na redução do índice de velocidade do crescimento micelial, *in vitro*, de *Stemphylium* spp., com o acréscimo das doses testadas. Não foi possível observar a inibição total do crescimento micelial do *Stemphylium* spp. nas condições estudadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOITEUX, L.S.; LIMA, M.F.; MENEZES SOBRINHO, J.A.; LOPES, C.A. A garlic (*Allium sativum*) leaf blight caused by *Stemphyllium vesicarium* in Brazil. **Plant Pathology**, Saint Paul, v. 43: 412-414. 1994.

BULLERMAN, L.B.; LIEU, Y.; SIER, S.A. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils, cinnamic aldehyde and eugenol. **J. Food Sct.** v. 46: 1107-1109. 1977.

CHAPUT, J. Identification of disease and disorders of onions. **Ontario: Queens Printers for Ontario**: 1-9. 1995.

CASTRO, C.; SILVA, M. L.; PINHEIRO, A. L.; JACOVINE, L. A. G. Análise econômica do cultivo e extração do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29 (n. 2): 241-249. 2005.

CONCHA, J. M., MOORE, L. S., HOLLOWAY, W. J. Antifungal activity of *Melaleuca alternifolia* (tea-tree) oil against various pathogenic organisms. **Journal. American Podiatric Medical Association**, v. 88, n. 10, p. 489-92, 1998.

CORREA-JOYERO, J.; TANGARIFE, V.; DURÁN, C.; STASCHENKO, E.; MESA-ARANGO, A. Atividade antifúngica *in vitro* e os efeitos citotóxicos de óleos essenciais e extratos de plantas medicinais e aromáticas contra *Candidakrusei* e *Aspergillusfumigatus*. **Revistabrasileirafarmacogn.** [online]. v.20, n.5, p.734-741, 2010.

FERREIRA, D. F. Manual do sistema Sisvar para análises estatísticas. Lavras: UFLA, 2000. 66 p.

Hennebelle, T.; Sahpaz, S.; Henry, J.; Bailleul, F. Ethnopharmacology of *Lippia alba*. **J. Ethnopharmacol.** v.116, p.211-222, 2008.



XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA

Instituto Agronômico - Campinas, SP

7 a 9 de Fevereiro de 2017

KUMAR, R.; MISHRA, A.K.; DUBEY, N.K.; TRIPATHI, Y.B. Evaluation of chenopodiummambrosioides oil as potential source of antifungal, antiaflatoxigenic and antioxidant activity. *Int. J. Food Microbiol.*v.115, n.2, p.159-164, 2007.

MASSOLA JÚNIOR, N. S; JESUS JÚNIOR,W. C.; KIMATI, H. Doenças do alho e da cebola (*Allium sativum* e *Allium cepa*). In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.) Manual de fitopatologia: vol. 2: doenças das plantas cultivadas. 4. ed. São Paulo: Ceres, p. 53-63, 2005.

MARTINS, J.A.S; SAGATA,E; SANTOS,V.A; JULIATTI, F.C. Avaliação do efeito do óleo de *Melaleuca alternifolia* sobre o crescimento micelial in vitro de fungos fitopatogênicos. *Bioscience Journal*, Uberlândia, v. 27, n. 1, p. 49-51, Jan./Feb. 2010.

MILLER, M. E.; LACY, M. L. Purple blotch.In: SCHWARTZ, H. F.; MOHAN, S. K. (Ed.).Compendium of onion and garlic diseases.St. Paul: APS Press, p. 23-24, 1995.

OLIVEIRA, D.R.; LEITAO, G.G.; BIZZO, H.R.; ALVIANO, D.; ALVIANO, C.S.; LEITAO, S. Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia origanoides* H.B.K. *Food Chemistry*.v.101, p.236-240, 2007.

OLIVEIRA, J. A. Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativas* L.) e pimentão (*Capsicum annanum* L.). Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1991. 111p.

REIS, A.; HENZ, G.P. Mancha púrpura do alho e da cebola: doença difícil de controlar. Comunicado técnico nº 71. Brasília (DF): Embrapa Hortaliças, 6p. 2009.

SIQUI, A.C.; SAMPAIO, A.L.F.; SOUSA, M.C.; HENRIQUES, M.G.M.O.; RAMOS, M.F.S. Óleos essenciais - potencial anti-inflamatório. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, São Paulo, v.16: 38-43. 2000.

SILVA, I. D.; TAKATSUKA, F. S.; ROCHA, M. R.; CUNHA, M. G. Efeito do extrato de sucupira (*Pterodon marginatus* vog.) sobre o desenvolvimento de fungos e bactérias fitopatogênicos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 35 (n. 2): 109-115. 2005.

VIEIRA, T.R.; BARBOSA, L.C.A.; MALTHA, C.R.A.; PAULA, V.F.; NASCIMENTO, E.A. Constituintes químicos de *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). **Química Nova**, São Paulo, v. 27 (n. 4). 2004.