



# XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA

## Instituto Agronômico - Campinas, SP

### 7 a 9 de Fevereiro de 2017

#### POTENCIAL DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Cymbopogon citratus* E *Syzygium aromaticum* NA INIBIÇÃO DA GERMINAÇÃO E VIABILIDADE DE ESCLERÓDIOS DO FUNGO *Sclerotium rolfsii*

Elisa Coser, André Luiz Graf Junior, João Batista Tolentino Junior, Adriana Terumi Itako.

Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC/Campus de Curitibanos, Centro de Ciências Rurais,  
Curitibanos-SC. [elisacoser@yahoo.com.br](mailto:elisacoser@yahoo.com.br), [andrejunior.graf9@gmail.com](mailto:andrejunior.graf9@gmail.com),  
[joao.tolentino@ufsc.br](mailto:joao.tolentino@ufsc.br), [adriana.itako@ufsc.br](mailto:adriana.itako@ufsc.br)

**RESUMO** - *Sclerotium rolfsii* é um fungo fitopatogênico responsável por causar podridão da raiz e do colo, murcha e tombamento de plântulas, atacando diversas famílias botânicas. Quando em condições desfavoráveis para o crescimento micelial, pode sobreviver no solo, por mais de cinco anos sob a forma de escleródio, sendo um fungo de difícil controle por apresentar essa estrutura de resistência. As substâncias produzidas por algumas plantas atuam como agentes fungistáticos ou fungicidas e vem sendo uma alternativa segura, viável e eficiente no controle de fungos fitopatogênicos. Para avaliação da eficiência na inibição da germinação dos escleródios foram utilizados óleos essenciais de capim-limão (*C. citratus*) e o cravo (*S. aromaticum*) nas doses de 1000, 2000, 3000 e 5000 ppm, tendo como controle o fungicida químico fluazinam (Cignus®) a uma concentração de 1%. Os escleródios foram distribuídos na superfície do meio AA com 4 ml da solução dos óleos. A metodologia de avaliação consistiu em realizar a contagem do número de escleródios germinados (presença de hifas) e não germinados (ausência de hifas) no período de 40 dias. Posteriormente, para avaliar a viabilidade do escleródio, os escleródios não germinados foram submetidos ao teste de Trifenil Cloreto de Tetrazólio (TCT). Os óleos essenciais de cravo nas doses de 2000, 3000 e 5000 ppm e de capim limão na dose de 5000 ppm mostraram eficiência na inibição da germinação dos escleródios no período avaliado. As maiores doses de cravo também apresentaram os melhores resultados quanto à inativação dos escleródios.

**Palavras-chave:** podridão do escleródio, controle alternativo, capim-limão e cravo da índia.

### INTRODUÇÃO

*Sclerotium rolfsii* é um fungo fitopatogênico responsável por causar a doença chamada popularmente de podridão do escleródio ou murcha do escleródio (AGRIOS, 2005). Esse patógeno possui uma vasta gama de plantas hospedeiras, cerca 100 famílias botânicas e mais de 200 espécies, sendo alguns exemplos de plantas atacadas o tomate, alface, alho, cebola, batata, cenoura, ervilha, feijão, girassol, soja, entre outras (KIMATI et al., 2005; PAULA et al., 2014). Alta umidade e temperatura estão entre as condições climáticas ideais para o crescimento micelial do fungo na presença de um hospedeiro (PUNJA & RAHE, 1992). Porém, quando em condições desfavoráveis,



# **XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA**

## **Instituto Agrônomo - Campinas, SP**

**7 a 9 de Fevereiro de 2017**

pode sobreviver no solo, por mais de cinco anos, sob a forma de escleródio, sendo um fungo de difícil controle por apresentar essa estrutura de resistência (ACHIEME et al., 2009).

Com o intuito de reduzir as contaminações ambientais e os problemas relacionados à saúde humana ocasionados pela utilização de fungicidas sintéticos, o uso de óleos essenciais de plantas medicinais, aromáticas e condimentares vem sendo uma alternativa segura, viável e eficiente no controle de fungos fitopatogênicos (SILVA et al., 2009). As substâncias produzidas por algumas plantas atuam como agentes fungistáticos ou fungicidas, dependendo das concentrações utilizadas, sendo um mesmo óleo utilizado contra uma grande gama de espécies microbianas (ANTUNES & CAVACOB, 2010). Dentre essas plantas, destaca-se o capim limão (*Cymbopogon citratus*) e o cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*) que vem sendo amplamente estudadas no controle alternativo de doenças em plantas de importância agrícola. Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial dos óleos essenciais sobre a germinação de escleródios do fungo *Sclerotium rolfsii*.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitopatologia da UFSC/Campus de Curitiba. Para avaliação da inibição da germinação dos escleródios foram utilizados óleos de capim limão (*C. citratus*) e cravo (*S. aromaticum*) com diferentes doses. Como testemunha controle foi utilizado o fungicida químico fluazinam (Cignus®) a uma concentração de 1%. Os óleos essenciais foram adquiridos comercialmente da empresa marca By Samia®.

Os escleródios inicialmente foram desinfestados (álcool a 70%, hipoclorito de sódio a 2%) (PUNJA & RAHE, 1992). Posteriormente, 12 escleródios foram colocados de forma equidistante sobre a superfície do meio Ágar-Água (AA) contendo 4 mL das soluções dos óleos essenciais nas doses de 1000, 2000, 3000 e 5000 ppm. As placas foram vedadas com filme plástico e incubadas em câmara de crescimento a 24°C com fotoperíodo de 12 horas.

A avaliação da germinação dos escleródios foi iniciada 24 horas após a instalação do experimento e perdurou por quarenta (40) dias sendo realizada diariamente. A avaliação consistiu em realizar a contagem do número de escleródios germinados (presença de hifas) e não germinados (ausência de hifas) com auxílio de um microscópio estereoscópio. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) utilizando oito tratamentos (dois óleos essenciais,



# **XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA**

## **Instituto Agrônomo - Campinas, SP**

**7 a 9 de Fevereiro de 2017**

quatro doses e duas testemunhas) com quatro repetições. Cada parcela experimental foi constituída por uma placa de Petri com 12 escleródios. Os dados foram submetidos à análise de sobrevivência por meio do cálculo das curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier utilizando a função *survfit* do pacote *survival* do software estatístico R.

Para avaliar a viabilidade dos escleródios após o mesmo, ser submetido aos tratamentos, realizou-se também o teste de Trifenil Cloreto de Tetrazólio (TCT). Seguindo a metodologia de Martins et al. (2003), os escleródios não germinados foram imersos em 2 mL de solução de TCT a 0,5% com pH de 6,3 a 6,5, sendo acondicionados em vidros âmbar por 24 horas a 30°C. Após o período de 24 horas, os escleródios foram lavados em água destilada, secos em papel-toalha e cortados ao meio para visualização da coloração interna dos escleródios. Com os dados foi realizada uma análise descritiva dos resultados.

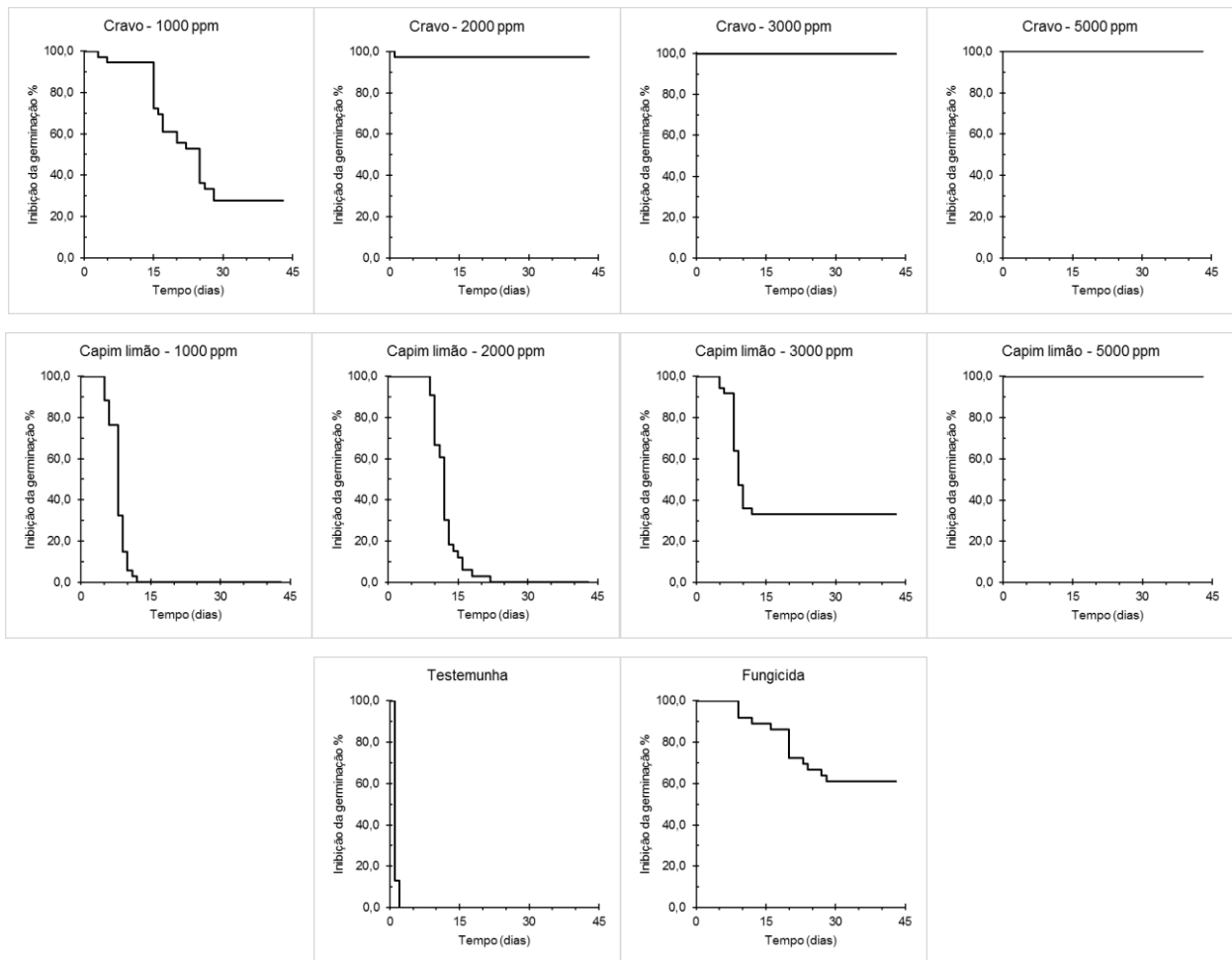
### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Com os dados em relação à inibição de germinação dos escleródios tratados com os óleos essenciais e fungicida (Figura 1) pode-se verificar que o óleo essencial de capim limão na dose de 1000 e 2000 ppm inibiram até o 5º dia e 9º dia a germinação dos escleródios, respectivamente. Já na dose 3000 ppm a inibição total permaneceu até o 5º dia e a parcial de até 33% de inibição até o último dia de avaliação. Na dose de 5000 ppm não houve germinação dos escleródios até o 40º dia. Ocorreu inibição total dos escleródios tratados com o óleo de cravo nas doses de 3000 e 5000 ppm. O fungicida fluazinam inibiu a germinação até o 9º dia e permaneceu com uma inibição de até 60% até o último dia de avaliação. Na testemunha a partir do 2º dia todos os escleródios germinaram.

Os dados descritivos do teste de TCT (%) demonstraram que os escleródios não germinados tratados com o óleo essencial de capim limão na dose de 5000 e 3000 ppm tiveram 40 e 20% de viabilidade, respectivamente (Tabela 1). No tratamento com óleo essencial de cravo a 5000 ppm foi observada 0% de viabilidade dos escleródios. O tratamento com fungicida apesar de não germinar o escleródio não teve a capacidade de inativar o mesmo. Neste trabalho, a ausência de coloração no teste de TCT confirma a inativação dos escleródios tratados com os óleos. A falta de coloração vermelha dos escleródios indica que houve desnaturação protéica e inibição da atividade de desidrogenases.



**XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA**  
**Instituto Agronômico - Campinas, SP**  
**7 a 9 de Fevereiro de 2017**



**Figura 1.** Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier para a porcentagem de inibição da germinação dos escleródios do fungo *S. rolfsii* tratados com os óleos essenciais de cravo da índia e capim limão nas doses de 1000, 2000, 3000 5000 ppm, fungicida fluazinam e testemunha.

**Tabela 1.** Viabilidade de escleródios do fungo *S. rolfsii* pelo teste tetrazólio (%) sob tratamento com óleos essenciais de cravo nas doses 5000 e 3000 ppm e capim limão nas doses 5000 e 3000 ppm, fungicida fluazinam (Fung.) à 1% e testemunha (Test.).

	Test.	Fung.	CRAVO (ppm)		CAPIM-LIMÃO (ppm)	
			3000	5000	3000	5000
Viabilidade dos escleródios (%)	100	100	10	0	20	40

A partir dos resultados, observa-se que as maiores doses de cravo (2000, 3000 e 5000 ppm) e a maior dose de capim limão (5000 ppm) se mostraram eficientes na inibição da germinação dos



# **XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA** **Instituto Agrônomo - Campinas, SP**

**7 a 9 de Fevereiro de 2017**

escleródios no período avaliado. Já no teste de viabilidade dos escleródios, as maiores doses de cravo apresentaram os melhores resultados quanto à inativação desses escleródios. O potencial de inibição de germinação e inativação dos escleródios deve-se as substâncias constituintes desses óleos. O óleo de cravo é composto em sua maioria pela substância eugenol que possui propriedades antifúngicas e é extremamente concentrado e hidrofóbico (VENTUROSOS et al., 2011), por apresentar essas características, ao ser adicionado em água não ocorre sua diluição, então o eugenol se adere a superfície do escleródio que irá absorvê-lo nessa forma concentrada, o que justifica a eficiência do óleo tanto na inibição da germinação quanto na inativação dos escleródios. Já no óleo de capim limão a principal substância presente é o citral que possui potencial fungistático e fungicida (NASCIMENTO et al., 2003), sua eficiência foi acentuada na inibição da germinação, mostrando-se um bom composto fungistático, porém na inativação mostrou resultados inferiores aos tratamentos com as maiores doses de cravo.

## **CONCLUSÃO**

Os óleos essenciais de cravo e capim limão apresentaram bons resultados em relação à inibição da germinação e inativação dos escleródios do fungo *S. rolfsii in vitro* evidenciando seu potencial fungitóxico. Sendo que as maiores doses testadas mostraram maior eficiência no controle. Faz-se necessário ainda, um estudo desses óleos em condições de campo para observar o comportamento dos mesmos, quando em contato com a planta e os diversos fatores ambientais.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ACHIEME, L.; SILVA, J. B. T.; MELLO, S. C. M.; CARVALHO FILHO, M. R. Produção de escleródios de *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum* em algodão hidrofílico e papel de filtro. (Comunicado Técnico, 194) Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2009.

AGRIOS, G.N. Plant pathology. 2.ed. San Diego: Academic Press, 2005. 635p.

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.





# **XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA** **Instituto Agrônomo - Campinas, SP**

**7 a 9 de Fevereiro de 2017**

KIMATI, H. et al. Manual de Fitopatologia. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. 663p.

MARTINS, M.V.V. et al. Erradicação de escleródios de *Sclerotium rolfsii* em substratos tratados em coletores solares, em Campos dos Goytacazes-RJ. Rev. Bras. Frutic, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p.421-424, 2003.

NASCIMENTO, I.B. do; INNECCO, R.; MARCO, C.A.; MATTOS, S.H.; NAGAO, E.O. Efeito do horário de corte no óleo essencial de capim-santo. Revista Ciência Agronômica, v.34, n.2, p.169- 172, 2003.

PAULA, F. O.; VIEIRA, Gustavo. H. C.; VIEIRA, F. E. C.; MOREIRA, J. P.; FERREIRA, T. S.; FERNANDES, O. G. Efeito de diferentes óleos essenciais sobre o fungo *Sclerotium rolfsii* Sacc. patógeno da cultura do rabanete. Cadernos de Agroecologia, v. 9, n. 4, p. 1-9, 2014.

PUNJA, Z.K.; RAHE, J.E. *Sclerotium*. In: Singleton, L.L., MIHAIL, J.D.; RUSH, C.M. Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. St, Paul: APS Press. 1992. p.166-170.

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, v. 33, p. 1853 -1860, 2009.

VENTUROSO, L.R.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L. Antifungal activity of plant extracts on the development of plant pathogens. Summa Phytopathologica, v.37, n.1, p.18-23, 2011.