



# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018  
Marília - SP

## ATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS NA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL IN VITRO DE *Sclerotinia sclerotiorum*

Patricia Fabretti Kreycki<sup>1</sup>, Eduardo Micotti da Glória<sup>1</sup>, Natália Yumi Ikeda<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz /ESALQ-USP. [kreycki@gmail.com](mailto:kreycki@gmail.com)

**RESUMO** – O mofo-branco causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* se encontra amplamente disperso pelas áreas de produção em todo país e afeta mais de 400 espécies de plantas, causando perdas na produção e redução na qualidade. O controle da doença é considerado difícil, pois o patógeno forma escleródios, que podem permanecer viáveis por vários anos. Na busca de novos métodos de manejo, os óleos essenciais surgem como opção. Neste trabalho foi avaliado o potencial dos óleos essenciais de *E. urugrandis*, *E. staigiriana*, própolis e terpinoleno no crescimento micelial. Avaliou-se em placas de Petri o crescimento radial desse fungo em meio batata-dextrose-ágar (BDA) com seis concentrações (0, 100, 250, 500, 1000 e 2000 ppm) dos óleos essenciais. Discos de micélio (5 mm de diâmetro) do fungo em crescimento foram transferidos para placas de Petri que foram mantidas a  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ . As avaliações consistiram em medições a cada 12 horas, até 48 horas de incubação. Todos os óleos essenciais promoveram redução no diâmetro das colônias de *S. sclerotiorum* durante o período de avaliação. *E. urugrandis* na dose de 2000 ppm, promoveu um efeito fungistático, até 24 horas de incubação. Esse mesmo efeito foi observado em *E. staigiriana* na dose de 250 ppm. As demais concentrações inibiram completamente o fungo. No óleo essencial de própolis, a dose de 2000 ppm, impediu totalmente o desenvolvimento da colônia. Para o terpinoleno, embora todas as doses tenham reduzido o crescimento micelial, nenhuma foi capaz de inibir totalmente o fungo. A equação polinomial foi a que melhor se ajustou aos dados do crescimento micelial após 48 horas de incubação. O valor da CI50 foi de cerca de 550 ppm, 150 ppm, 500 ppm e 420 ppm, para *E. urugrandis*, *E. staigiriana*, própolis e terpinoleno, respectivamente. Conclui-se que os óleos essenciais testados possuem potencial para o controle de *S. sclerotiorum*, com destaque para o óleo de *E. staigiriana*.

**Palavras-chave:** *S. sclerotiorum*, óleos essenciais, controle alternativo, crescimento micelial.

### INTRODUÇÃO

O mofo branco é uma doença causada pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, conhecido mundialmente por ser muito agressivo, cosmopolita, inespecífico e com um grande número de hospedeiros (BOLAND e HALL, 1994), podendo causar danos significativos em culturas de importância econômica como alface, algodão, batata, canola, crotalária, ervilha, feijão, girassol, repolho, soja, tomate entre outras (BOLTON et al., 2006). Estes fatos demonstram a grande versatilidade ecológica deste fungo e sua vasta adaptação a diferentes ambientes (PELTIER et al., 2012).

Um dos métodos mais utilizados no manejo do mofo branco é o controle químico, e seus resultados variam conforme o ingrediente ativo, época e número de aplicações. Apesar



# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

## 20 a 22 de fevereiro de 2018

### Marília - SP

de diversos relatos de sua eficiência, o controle químico tem alto custo e não atinge a causa do problema, o banco de escleródios no solo. Apesar da proteção parcial às lavouras, não há um controle efetivo que impeça a reinfestação do solo por novos escleródios produzidos nas plantas infectadas (LU, 2003) e, por este motivo, é necessário o uso do manejo integrado de doenças, essencial para a redução do inóculo primário e com isso redução das perdas (PELTIER et al., 2012).

O uso intensivo de fungicidas, especialmente os que possuem sítio de ação específico, pode selecionar isolados resistentes e, conseqüentemente, levar a falhas de controle (BRENT e HOLLOMON, 2007). Sendo assim, pesquisas visando o controle alternativo, através do emprego de óleos essenciais e extratos vegetais têm aumentado consideravelmente nos últimos anos e revelado seu potencial (SCHWAN-ESTRADA e STANGARLIN, 2005). Algumas plantas apresentam diversas substâncias em sua composição química, muitas delas com potencial fungicida ou fungistático, as quais devem ser estudadas para utilização direta do produtor rural, bem como para servir de matéria prima para formulação de novos produtos (GARCIA et al, 2012).

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de óleos essenciais de eucalipto (*Eucalyptus urugrandis* e *Eucalyptus staigiriana*), própolis e terpinoleno sob o crescimento micelial de *S. sclerotiorum* "in vitro".

## MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos na Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP, em Piracicaba, SP. O isolado de *S. sclerotiorum* utilizado neste estudo foi obtido de escleródios formados no interior da haste de feijão, provenientes de campos comerciais de Planaltina-GO. Em laboratório, os escleródios foram previamente desinfestados e transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA). As placas foram incubadas no escuro, na temperatura de  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , durante 6 dias.

Com exceção do terpinoleno, os demais óleos foram extraídos a partir de 500 g de amostra e 2,5 L de água destilada (proporção de 1:5). A extração foi realizada em hidrodestilador tipo Clevenger durante 4 h. Após a extração foi realizada a desidratação do óleo essencial pela passagem em uma camada de sulfato de sódio anidro. O óleo essencial de



# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

## 20 a 22 de fevereiro de 2018

### Marília - SP

cada amostra foi armazenado em frasco âmbar em refrigeração a 4 °C. Para realização do estudo, foi obtida uma amostra comercial de terpinoleno.

Para avaliar o efeito dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*, os mesmos foram adicionadas ao meio de cultura após esterilização e resfriamento, nas concentrações de 0, 100, 250, 500, 1000 e 2000 ppm. Como adjuvante, utilizou-se Tween 80, para homogeneização dos óleos ao meio de cultura. Após a solidificação do meio de cultura, discos de BDA de 5 mm de diâmetro, contendo micélio com 3 dias de idade, foram depositados no centro das placas de Petri de 9 cm de diâmetro, as quais foram mantidas a 23± 2°C °C no escuro, utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições.

O diâmetro das colônias foi obtido da média de duas medidas diametralmente opostas, com o uso de paquímetro digital. As medições foram realizadas em intervalos de 12 horas, até atingir 48 horas, quando o micélio de *S. sclerotiorum* no tratamento controle cobriu toda a superfície do meio. A percentagem de redução do crescimento micelial em função das concentrações de óleos essenciais foi calculada com o diâmetro das colônias mensurada com 48 horas de acordo com a seguinte equação:

$$PICM = \frac{(DTT - DTOE)}{DTT} \times 100$$

Onde: PICM = porcentagem de inibição do crescimento micelial, DTT = diâmetro no tratamento testemunha, DTOE = diâmetro no tratamento com óleo essencial.

Foram realizadas análises de regressão, com auxílio do software Excel, escolhendo-se o melhor modelo que apresentasse significância e sentido biológico para explicar o efeito das concentrações crescentes dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial dos fungos. Os dados foram apresentados em gráficos contendo a média do diâmetro de colônia dos fungos em cada concentração dos óleos essenciais.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados apresentados na Figura 1 demonstram que houve diferença entre os óleos essenciais testados e o controle, durante o experimento. Todas as doses testadas do óleo essencial de *E. urugrandis*, promoveram redução no diâmetro das colônias (Figura 1-A). Na



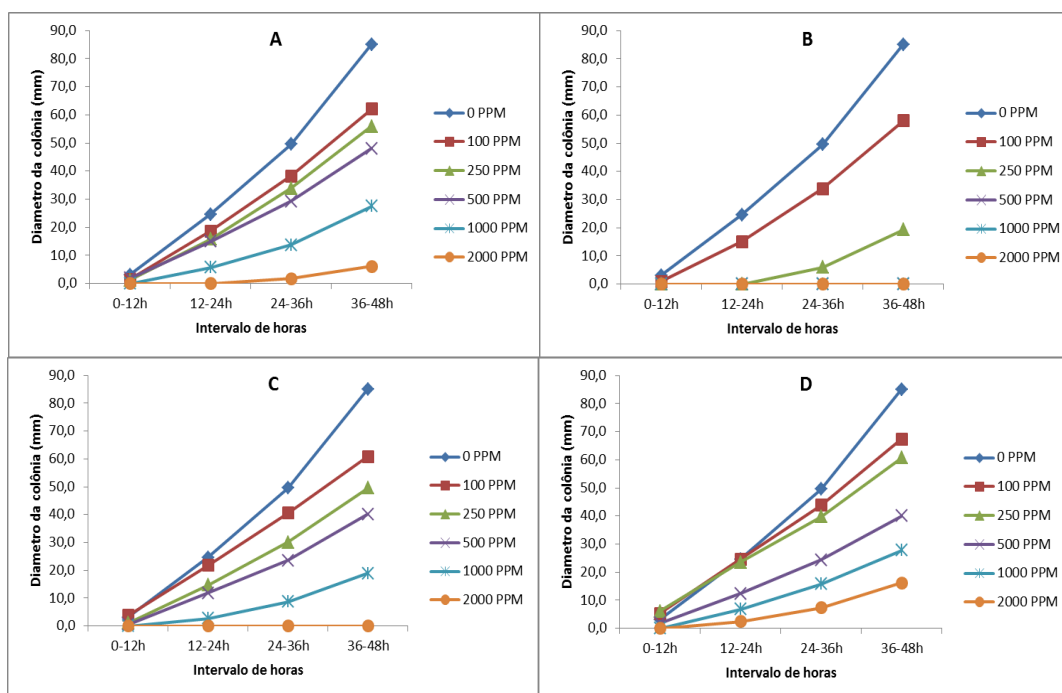
# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018  
Marília - SP

maior dose (2000 ppm) nota-se um efeito fungistático, ou seja, o fungo só iniciou seu desenvolvimento após 24 horas de incubação.

O óleo essencial de *E. staigiriana* foi o que proporcionou o maior efeito inibitório no crescimento micelial de *S. sclerotiorum* entre os óleos testados. Somente as menores doses (100 e 250 ppm) permitiram o crescimento da colônia. Na dose de 250 ppm, o óleo apresentou efeito fungistático, permitindo o crescimento da colônia somente a partir de 24 horas. As demais concentrações não permitiram o desenvolvimento da colônia, durante o período de avaliação.

Todas as doses do óleo essencial da Própolis reduziram o crescimento da colônia, e a maior dose (2000 ppm) inibiu completamente o crescimento da mesma (Figura 1-C). Em relação ao terpinoleno, todas as doses reduziram o crescimento micelial, entretanto, nenhuma dose testada foi capaz de inibir totalmente o crescimento da colônia, durante o período avaliado. (Figura 1-D).



**FIGURA 1.** Efeito dos óleos essenciais incorporado ao meio BDA sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*. A. *E. urugrandis*. B. *E. staigiriana*. C. Própolis. D. Terpinoleno.

A equação polinomial foi a que melhor se ajustou aos dados de crescimento micelial do fungo sobre o efeito do óleo essencial de *E. urugrandis* (Figura 2-A). O valor da CI50



# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

## 20 a 22 de fevereiro de 2018

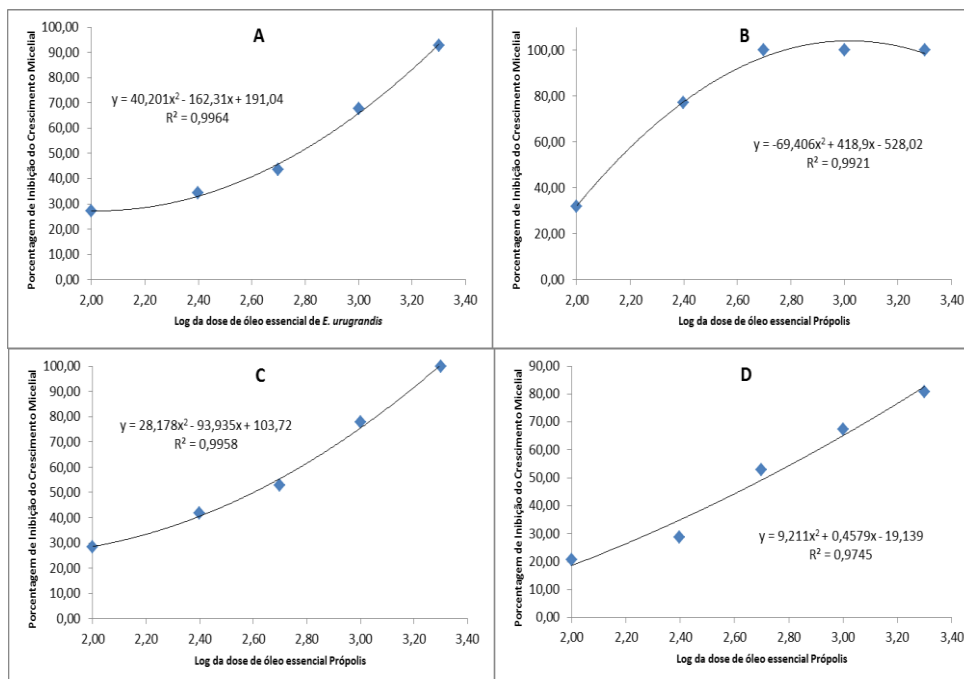
### Marília - SP

(concentração que inibe em 50% o crescimento micelial) foi próximo a 550 ppm, e a maior dosagem testada (2000 ppm) foi capaz de reduzir em 92% o crescimento da colônia.

Em relação ao óleo essencial de *E. staigiriana*, a menor dose testada (100 ppm) foi capaz de reduzir em torno de 30% o crescimento micelial. Já a dose de 250 ppm promoveu a redução de cerca de 75%. As demais doses inibiram completamente o desenvolvimento da colônia. A CI50 ficou em torno de 150 ppm. (Figura 2-B).

A porcentagem de inibição do crescimento micelial em função das concentrações do óleo essencial de Própolis foram melhores ajustadas ao modelo polinomial. A dose de 250 ppm se aproximou da CI50 e a maior dosagem (2000 ppm) inibiu completamente o crescimento da colônia.

O terpinoleno foi o que menos inibiu o crescimento micelial, sendo que as doses promoveram redução entre 20 e 80%, e a CI50 ficou em torno de 420 ppm.



**Figura 2.** Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* sob efeito de óleos essenciais, após 48 horas de incubação. A. *E. urugrandis*. B. *E. staigiriana*. C. Própolis. D. Terpinoleno.

## CONCLUSÃO

Os óleos essenciais testados apresentam potencial inibidor no crescimento micelial de *S. Sclerotiorum*. O óleo de *E. staigiriana* mostrou-se bastante promissor. No entanto, apesar dos resultados positivos nos testes in vitro para crescimento micelial, novos parâmetros



# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018  
Marília - SP

devem ser avaliados, como produção e viabilidade de escleródios e formação de apotécios, além de estudos de campo para confirmar o seu potencial de uso no controle deste fitopatógeno.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOLAND, G.J.; HALL, R. Index of plants of hostes *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal Plant Pathology, Ontario** v.16, n.1, p.93-108, 1994.

BOLTON, M.D.; THOMMA, B.P.H.J.; NELSON, B.D. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**, London, v.1, n.7, p.1-16, 2006.

BRENT, K.J.; HOLLOMON, D.W. **Fungicide resistance in crop pathogens: How can it be managed?** FRAC. Brussels, Belgium. 2007. 56p.

GARCIA, R.A.; JULIATTI, F.C.; CASSEMIRO, T. A. Produção de escleródios de *sclerotinia sclerotiorum* (lib.) de bary em meio de cultura. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, p. 1-7, 2012.

LU, G. Engineering *Sclerotinia sclerotiorum* resistance in oilseed crops. **African Journal of Biotechnology**, Grahamstown, v 2,p. 509–516,2003.

PELTIER, A.J.; BRADLEY, C.A.; CHILVERS, M.I.; MALVICK, D.K.; MUELLER, D. S.; WISE, K.A.; ESKER, P.D. Biology, yield loss and control of *Sclerotinia* stem rot of soybean. **Journal of Integrated Pest Management**, Annapolis, v. 3, n. 2, p. B1-B7, 2012.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F., STANGARLIN, JR. Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P. et al. (Eds.). Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos. Piracicaba: **FEALQ**. p. 125-132, 2005.