

**13895 - Atividade antifúngica do óleo essencial de *Cinnamomum camphora* var. *linaloolifera* sobre *Colletotrichum gloeosporioides* na cultura do pimentão**

Antifungal activity of the essential oil of *Cinnamomum camphora* var. *linaloolifera* on *Colletotrichum gloeosporioides* in pepper culture

**PANAZZOLO, Maurício<sup>1</sup>; MEZZOMO, Fabiane<sup>1</sup>; RIBEIRO, Rute<sup>1</sup>; PANSERA LEMOS, Márcia<sup>1</sup>; RUPP Luís Carlos<sup>2</sup>; VENTURIN, Leandro<sup>2</sup>; SANTOS, Murilo, C<sup>1</sup>; CAMATTI-SARTORI, Valdirene<sup>1</sup>**

1 Universidade de Caxias do Sul - Instituto de Biotecnologia, Caxias do Sul, RS, Brasil, CEP 95-070560. 2 Centro Ecológico da Serra – Ipê – RS, Brasil, CEP 95-240000.  
mauriciopanazzolo@gmail.com; fabianemezzomo@gmail.com; rtsribei@ucs.br; mrpancer@ucs.br; ruppluis@gmail.com; stventur@yahoo.com.br; mcsantos3@ucs.br; vcsartor@ucs.br,

**Resumo:** Os subprodutos de plantas medicinais têm sido estudados como uma alternativa para o controle de doenças de plantas visando amenizar e/ou reduzir o uso abusivo de agrotóxicos. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar, *in vitro* e *in vivo*, o controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da antracnose do pimentão por óleos essenciais (OEs). Para inibição do crescimento micelial *in vitro*, os OEs foram incorporados ao BDA (Batata-dextrose-ágar) tendo-se observado a inibição total ou parcial do crescimento micelial, dependendo do óleo essencial utilizado. No ensaio *in vivo* utilizaram-se o OE de *Cinnamomum camphora* (0,20%). O parâmetro avaliado foi a incidência da doença sobre plantas em casa de vegetação. Esse trabalho mostrou a eficiência do óleo essencial de ho-sho (*C. camphora*) na redução da incidência da antracnose nas plântulas de *Capsicum annuum*. Verificou-se, *in vivo*, uma redução no número de lesões de *C. gloeosporioides* mais o adjuvante figo da Índia. Assim, conclui-se que esse óleo essencial pode ser uma alternativa aos fungicidas sintéticos e uma ferramenta destaque no manejo integrado de doenças.

**Palavras-chaves:** *Capsicum annuum*, óleo essencial fitoprotetor, substâncias adjuvantes, cultivo orgânico

**Abstract:** The by-products of medicinal plants have been studied as an alternative for the control of plant diseases aiming mitigate and / or reduce the overuse of pesticides. This study aimed to evaluate, *in vitro* and *in vivo* control of *Colletotrichum gloeosporioides*, causal agent of anthracnose of pepper for essential oils (SOs). For mycelial growth inhibition *in vitro*, the SOs were incorporated into the BDA (potato dextrose agar) has been observed partial or total inhibition of mycelial growth, depending on the essential oil used. *In vivo* test were used OE *Cinnamomum camphora* (0,20%). The parameter evaluated was the incidence of the disease on plants in the greenhouse. This work showed the efficiency of essential oil of ho-sho (*C. camphora*) in reducing the incidence of anthracnose in seedlings of *Capsicum annuum*. It was found *in vivo*, a reduction in the number of lesions *C. gloeosporioides* plus adjuvant the Indian fig. So, it is concluded that this essential oil can be an alternative to synthetic fungicides and a prominent tool in integrated pest management.

**Keywords:** *Capsicum annuum*, essential oil fitoprotetor, auxiliary substances, organic farming

## **Introdução**

Levando em conta que pragas e doenças como a antracnose, a murcha-de-fitóftora ainda são os principais entraves na produção de pimentão, principalmente em campo aberto, vem se buscando alternativas para minimizar o uso de agroquímicos. Para isto, leva-se em conta que tanto o controle alternativo, quanto o biológico são considerados como ferramenta natural e uma alternativa ecológica muito importante para superar os problemas causados por métodos químicos para a proteção de plantas e produtores. Desta forma, se faz necessário a adoção de medidas integradas e com controle alternativo e biológico, o que possibilita a execução de uma agricultura menos dependente de agrotóxicos, tornando-se mais saudável e sustentável (LOPES e ÁVILA, 2003).

A exploração da atividade antimicrobiana e/ou elicitora de defesa utilizando compostos secundários presentes no extrato bruto ou óleos essenciais de plantas medicinais, constitui-se em mais uma forma potencial para controle de doenças em plantas cultivadas. A aplicação de caldas fitoprotetoras podem apresentar perdas significativas que podem ser ocasionadas por vários fatores, tais como deriva, escoamento superficial e evaporação. Um artifício para reduzir as perdas é a utilização de adjuvantes, que são produtos inertes adicionados a calda de pulverização proporcionando maior eficiência na aplicação. Os adjuvantes mais utilizados atualmente na agricultura orgânica são sementes de linho (*Linum usitatissimum*) trituradas, folhas de figo da índia (*Opuntia ficus*), sabão neutro, farinha de trigo, que atuam como agentes aderentes (MEIRELLES e RUPP, 2005). Segundo VARGAS e ROMAN (2010), dentre os adjuvantes existentes, aqueles de ação surfactante exercem papel fundamental no sistema líquido-folha, pois, a modificação no comportamento interfacial entre a solução aspergida e a folha evita que áreas fiquem descobertas, aumentando a eficiência da aplicação, e colabora para o aumento da eficiência econômica, já que evita o escoamento excessivo deste para o solo.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido junto ao Instituto de Biotecnologia – Laboratório de Controle Biológico de Doenças de Plantas e em casa de vegetação, no período de setembro a dezembro de 2012. O microrganismo *C. gloeosporioides* foi isolado de pimentão com sintomas da doença. O material vegetal utilizado foi: ho-sho (*Cinnamomum camphora*), capim-limão (*Cymbopogon citratus*), maria-mole (*Senecio brasiliensis*), carqueja (*Baccharis trimera*) e vassoura (*Baccharis spicata*). A coleta das plantas foi realizada no Município de Caxias do Sul/RS (S / 29°09'78,0" e W / 51°08'65,9"). A extração dos óleos essenciais foi realizada por hidrodestilação em aparelho Clevenger durante 1 hora.

Foram utilizados os adjuvantes de figo da índia (2kg triturados/100L água) e óleo de gergelim (100ml/100 mL água destilada) MEIRELLES & RUPP (2005). A função dos adjuvantes neste trabalho é reduzir o risco de deriva das aplicações e aumentar a deposição da calda sobre as plantas de pimentão. Para aplicação dos tratamentos a campo foi verificado anteriormente a estimativa de deposição dos distintos adjuvantes com a utilização de papel hidrossensível. Este método estima o volume depositado através do conhecimento da frequência de distribuição de diâmetros de

impressões causadas por gotas de pulverização em alvos de amostragem artificiais e da densidade de gotas/cm<sup>2</sup> de cada amostra.

A avaliação *in vitro* da atividade biológica dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial de *C. gloeosporioides*, resultou nas concentrações 0,01; 0,05; 0,1; 0,15; 0,20%. O meio BDA foi plaqueado, e um disco (0,5cm de diâmetro) de ágar colonizado com o fungo foi transferido para o centro de cada placa. O tratamento testemunha, continha apenas o meio BDA. As placas foram incubadas em BOD, a 25° C, por 7 dias. As avaliações foram feitas nos 3º, 7º e 14º dias de incubação através das medidas dos diâmetros da colônia de crescimento do fungo.

A avaliação da atividade biológica do óleo essencial que demonstrou melhor controle *in vitro* sobre o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* foi avaliado *in vivo* sobre mudas de pimentão em casa de vegetação. Para a colonização da planta pelo fungo *C. gloeosporioides*, foi adicionado uma suspensão de 1.10<sup>6</sup> conídios por mL diretamente nas folhas e flores. Os tratamentos foram dispostos em um delineamento inteiramente casualizado, com três repetições de 15 plantas cada constituídos por, Tratamento (a): óleo de Ho-sho na concentração de 0,20%; Tratamento (b): Ho-sho + tween + adjuvante (figo da índia) aplicado na concentração de 0,20%; Tratamento (c): Ho-sho + tween + adjuvante (óleo de gergelim), na concentração de 0,20% e tratamento (d) planta com patógeno – plantas controle. Todas as aplicações foram feitas semanalmente, por volta das 18 horas, com pulverizador manual até o ponto de “gotejamento” até completar 30 dias. As avaliações foram efetuadas aos trinta dias após as inoculações, mediante a determinação da incidência (número de plântulas infectados em cada tratamento. Os resultados foram analisados pela análise de variância One-Way ANOVA, com o pós-teste de Tukey para um p < 0,05, utilizando-se o programa computacional SPSS 17.0.

## Resultados e discussão

Pelos resultados podemos constatar que o óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e ho-sho (*Cinnamomum camphora*) foram eficientes na inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* apresentando caráter fungicida, a partir da concentração de 0,15 µL/mL (Tabela 1).

**Tabela 1.** Média do crescimento micelial (mm) de *Colletotrichum gloeosporioides* sob diferentes óleos essenciais

Concentrações	0,01%	0,05%	0,10%	0,15%	0,20%	Controle
Óleos Essenciais	Média do crescimento Micelial (mm)					
Capim-Limão	69,6 <sup>A*</sup>	80,6 <sup>A</sup>	4,5 <sup>B</sup>	4,0 <sup>B</sup>	3,9 <sup>B</sup>	88,6 <sup>A</sup>
Carqueja	77,7 <sup>A</sup>	83,5 <sup>A</sup>	77,5 <sup>A</sup>	63,3 <sup>A</sup>	59,7 <sup>B</sup>	88,6 <sup>A</sup>
Ho-Sho	77,3 <sup>A</sup>	77,4 <sup>A</sup>	76,2 <sup>A</sup>	5,8 <sup>B</sup>	4,7 <sup>B</sup>	88,6 <sup>A</sup>
Maria-Mole	72,3 <sup>A</sup>	64,5 <sup>A</sup>	69,0 <sup>A</sup>	57,5 <sup>A</sup>	49,8 <sup>B</sup>	88,6 <sup>A</sup>
Vassoura	66,4 <sup>A</sup>	64,7 <sup>A</sup>	56,7 <sup>A</sup>	54,3 <sup>A</sup>	49,1 <sup>B</sup>	88,6 <sup>A</sup>

\*Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Trabalhos obtendo os mesmos resultados avaliando o potencial de óleos essenciais no controle de fitopatógenos já foram relatados. FERREIRA *et al.* (2012) avaliam alguns óleos essenciais como possíveis inibidores de doenças fitossanitárias, como no caso da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*). Também MOREIRA *et al.* (2008) observaram intenso potencial antifúngico do óleo volátil de *Cinnamomum zeylanicum*, inibindo totalmente o crescimento de *C. cladosporioides*.

O resultado da avaliação dos adjuvantes figo da Índia e óleo de gergelim apresentaram ampla aderência ao papel sensível. Isto representa uma resposta positiva quanto a fixação e dispersão do óleo essencial de Ho-Sho sobre as plantas de pimentão.

**TABELA 2** - Controle da podridão causada por *Colletotrichum gloeosporioides* em plântulas de *Capsicum annuum*

Tratamentos	Incidência
Tratamento A: Ho-sho (0,20%)	13,0%
Tratamento B: Ho-sho (0,20%)+ tween + adjuvante (figo da Índia)	0,0%
Tratamento C: Ho-sho (0,20%)+ tween + adjuvante (óleo de gergelim),	33,0%
Tratamento D: Planta apenas com patógeno (testemunha)	100%

<sup>1</sup>Leitura após trinta dias em casa de vegetação. Quinze plântulas por tratamento

<sup>2</sup>I = (N° de plântulas infectadas / N° total de plântulas) x 100;

Na avaliação das plântulas com sintomas provocados por (*Colletotrichum gloeosporioides*) *Glomerella cingulata* observou-se o desenvolvimento de lesões características do patógeno nas folhas de *Capsicum annuum* nos tratamentos D (testemunha), seguido pelo tratamento A e C (Tabela 2). De acordo com os resultados obtidos conclui-se que a adição de adjuvantes à calda de pulverização alterou o comportamento da distribuição volumétrica proporcionada pela aplicação. Em geral, a adição dos adjuvantes reduziu o risco potencial de deriva das aplicações e aumentou a deposição dos óleos essenciais utilizados neste experimento.

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.

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 compõem esses óleos (DERBALAH *et al.*, 2011). De acordo com AI-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.

## Conclusão

A inibição total ou parcial do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, *in vitro*, evidenciou a existência de compostos biologicamente ativos, com efeito

fungitóxico, na maioria plantas aromáticas utilizadas na forma de óleos essenciais. Isto indica uma aplicação potencial no controle alternativo da antracnose nas plântulas de *Capsicum annum*.

O óleo essencial com o adjuvante figo da Índia possuem potenciais no controle de *C. gloeosporioides* em plantas de pimentão, sendo que a sua utilização poderia ser uma opção de controle em cultivos orgânicos ou em cultivos convencionais em sistema de manejo integrado reduzindo, assim, a aplicação de fungicidas comerciais.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

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.

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.

DUTTA BK, Karmakar S, Naglot A, Aich JC, Begam M. Anticandidial activity of some essential oils of a mega biodiversity hotspot in India. *Mycoses*. 2007;50(2):121-4.

FERREIRA, J. B.; NEVES, Y. Y. B.; NASCIMENTO, G. O.; FIGUEIREDO, A. L. V.; VENTURIN, N. Óleos essenciais no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da antracnose em palmáceas. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v. 8, n.14, p. 751-760, 2012

LOPES, Carlos Alberto; ÁVILA, Antônio Carlos de. **Doenças do Pimentão: Diagnose e Controle**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2003. 96p.

MEIRELLES, L. R.; RUPP, L. C. D. **Agricultura ecológica: princípios básicos**. Cartilha do Centro ecológico de Ipê, 2005. 76p.

MOREIRA ACP, LIMA EO, SOUZA EL, VAN DINGENEN, M. A.; TRAJANO, V. N. Inhibitory effect of *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae) essential Oil and beta - pinene on the growth of dematiaceous moulds. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 38, n. 1, p. 33 - 38, 2007.