

13996 - Atividade fitotóxica de extratos aquosos e óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. & Sacc,

*Phytotoxic activity of aqueous extracts and essential oils on *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. & Sacc*

GIACOMINI, Gabriela¹; NACHTIGAL, Glaucia de Figueiredo²; SCHIEDECK, Gustavo²; VALGAS, Ricardo Alexandre²; GIACOMINI, Rafaela Xavier³; LIMA, Daniel Lopes de²

1 Instituto Federal Sul-Rio-Grandense Campus Pelotas Visconde da Graça, bolsista PROBIC FAPERGS, gabrielaxgiacomini@gmail.com; 2 Embrapa Clima Temperado, glaucia.nachtigal@embrapa.br, gustavo.schiedeck@embrapa.br, ricardo.valgas@embrapa.br, daniel.lima@embrapa.br; 3 Guatambu Estância do Vinho, rafaelagiacomini@hotmail.com

Resumo: A antracnose do maracujazeiro, causada por *C. gloeosporioides* pode comprometer totalmente a produção, bem como prejudicar a conservação de fruto em pós-colheita. Buscou-se explorar o potencial antifúngico de óleos essenciais e extratos aquosos de camomila (*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert), espinheira santa (*Maytenus illicifolia* (Schrad.) Planch.), chinchilho (*Tagetes minuta* L.) e manjeriço (*Ocimum kilimandscharicum* Guerke) como estratégia para o desenvolvimento de produtos naturais a serem inseridos em sistemas produtivos de maracujá em fase de transição agroecológica. Nas condições e concentrações estipuladas nos ensaios verificou-se que, diferentemente do controle positivo, os extratos aquosos de chinchilho, camomila e espinheira santa não foram capazes de inibir por completo o crescimento micelial do patógeno, independente da concentração analisada. Forte atividade fungitóxica foi observada para o óleo essencial de chinchilho e manjeriço, com destaque para o primeiro.

Palavras-chave: Plantas bioativas, produtos naturais, doenças de plantas

Abstract: The anthracnose of passion fruit caused by *C. gloeosporioides* can fully commit the production as well as it can affect the conservation of post-harvest fruit. We sought to explore the antifungal potential of essential oils and aqueous extracts of *chamomile* (*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert), *espinheira santa* (*Maytenus illicifolia* (Schrad.) Planch.), *chinchilho* (*Tagetes minuta* L.) and *basil* (*Ocimum kilimandscharicum* Guerke) for the development of natural products to be inserted in passion fruit production systems in agroecology transition. In the concentrations and conditions stipulated in the trials it was found that, unlike the positive control, the aqueous extracts of chinchilho, chamomile and espinheira santa were not able to completely inhibit the mycelial growth of the pathogen, independent of concentration analyzed. Strong fungitoxic activity was observed for the essential oil of chinchilho and basil, especially to the first one.

Keywords: Bioactive plants, natural products, plant pathology

Introdução

A antracnose, causada por *C. gloeosporioides*, é comumente encontrada em todas as regiões produtoras de maracujá no Brasil. Os danos causados por este patógeno são mais expressivos em plantios adultos, geralmente após o primeiro pico de safra, chegando a provocar seca de galhos e morte de plantas. O fungo infecta tecidos novos e brotações, podendo permanecer em estado latente ou quiescente, sem mos-

trar sintomas, até que as condições climáticas se tornem favoráveis e/ou a planta sofra algum tipo de estresse, quer seja nutricional, hídrico ou por excesso de produção. Quando isso acontece, geralmente as plantas começam a secar (Junqueira *et al.*, 2005). Em adição, consiste na mais importante doença de pós-colheita da cultura, reduzindo o período de conservação do fruto pela ocorrência de podridão mole e deprimida.

Para o manejo de doenças em sistemas produtivos de base ecológica, grande atenção tem sido direcionada ao uso de extratos e óleos essenciais de plantas por possuírem substâncias de conhecido caráter antimicrobiano. Estes podem atuar diretamente sobre os patógenos ou como indutores de resistência em plantas (BONALDO *et al.*, 2004; STANGARLIN, 2007). Muitos trabalhos com diferentes patossistemas (interação patógeno/hospedeiro) relatam a eficiência no controle de patógenos, tanto em relação a extratos vegetais obtidos de plantas medicinais, condimentares e aromáticas quanto aos óleos essenciais.

Na região sul do Brasil, a Embrapa Clima Temperado tem investido esforços no sentido de viabilizar soluções tecnológicas que possibilitem o cultivo de frutíferas em sistemas de produção de base ecológica, com enfoque no maracujá amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa* Deg.). Na busca por produtos naturais para o manejo de *C. gloeosporioides* em sistemas de produção desta espécie frutífera sob transição agroecológica, buscou-se, neste trabalho, explorar o potencial fungitóxico de extratos aquosos de chinchilho, espinheira santa e camomila e óleos essenciais de chinchilho e manjerição, em condição de laboratório, expresso pela interferência no crescimento micelial do patógeno.

Metodologia

O trabalho foi realizado na Embrapa Clima Temperado – Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS, no período de janeiro a junho de 2013. Foram realizados bioensaios *in vitro* visando verificar o efeito de extratos aquosos e/ou óleos essenciais de chinchilho, manjerição, espinheira santa e camomila, espécies medicinais cultivadas no sul do Brasil, sobre o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* isolado de frutos de maracujá.

No preparo de extrato aquoso de chinchilho, camomila e de espinheira santa, respectivamente flores (300 g.L⁻¹, 100 g. L⁻¹) e folhas (100 g.L⁻¹) ficaram em contato com água destilada fervente por 30 minutos em ambiente de laboratório. Após este período, a mistura foi filtrada em funil contendo uma porção de algodão como elemento filtrante. O filtrado obtido foi acondicionado em vidro âmbar e mantido em refrigerador, a 4°C, até o momento de utilização.

Para avaliação do crescimento micelial, extratos aquosos de chinchilho, espinheira santa e camomila foram empregados, respectivamente, nas concentrações de 0 (testemunha), 5, 10, 20 e 30% (v/v); 0, 5, 10 e 20 % (v/v) e 0, 5 e 10% (v/v), os quais foram incorporados em meio BDA previamente autoclavado.

Para efeito de comparação da eficiência dos tratamentos nos bioensaios de crescimento micelial (controle positivo) foi incluído fungicida com ingrediente ativo tebuconazole + trifloxistrobina em formulação concentrado emulsionável, sendo empregado na concentração indicada pelo fabricante para controle de *C. gloeosporioides* em maracujá. Após a solidificação do meio de cultivo em placas de

Petri de 9 cm de diâmetro foi depositado um disco de micélio do patógeno na porção central, sendo em seguida vedadas com Parafilm® e mantidas, a 25°C, sob fotoperíodo diário de 12 horas.

Óleos essenciais de chinchilho e manjeriço foram obtidos, respectivamente, pelo processo de hidrodestilação por arraste com vapor d'água com extrator de Clevenger. Ao final do processo de extração, o óleo foi separado da água por separação líquido-líquido e a fase aquosa descartada. O armazenamento ocorreu sob condição de escuro, em freezer. Procedeu-se conforme descrito anteriormente, exceto pela distribuição de alíquotas de 0 (testemunha), 5, 10, 20 ou 30 µL de cada tratamento na superfície do meio de cultura, após resfriamento, com auxílio de alça de Drigalsk.

As avaliações foram realizadas por meio de medições diárias do diâmetro das colônias em dois eixos ortogonais (média das duas medidas diametralmente opostas), iniciadas após 48 horas de incubação, e perduraram até o momento em que as colônias fúngicas do tratamento testemunha atingiram 2/3 da superfície total do meio de cultivo.

O delineamento experimental empregado, tanto para extratos quanto para óleos essenciais, foi o inteiramente casualizado, constituído de 6 repetições, sendo cada parcela representada por uma placa de Petri. Por se tratar de dados observacionais repetidos ao longo do tempo, foi ajustado um modelo linear para cada repetição como representação da taxa de crescimento micelial e estas taxas, na sequência, foram avaliadas como uma variável aleatória a partir de uma ANOVA. As taxas foram obtidas com o uso do programa estatístico SASM-Agri® e comparadas por meio do programa R.

Resultados e discussões

Nas condições e concentrações estipuladas no ensaio para avaliar o potencial fungitóxico de extratos aquosos a *C. gloeosporioides* verificou-se que, diferentemente do controle positivo para o qual foi verificado ausência total de crescimento micelial, os extratos aquosos de chinchilho, camomila e espinheira santa não foram capazes de inibir por completo o crescimento micelial do patógeno, independente da concentração analisada (Tabela 1). O crescimento micelial foi igualmente afetado em presença de quaisquer extratos e concentrações.

Ao considerar o efeito dos óleos essenciais, observou-se forte atividade fungitóxica do óleo de chinchilho, equivalente àquela proporcionada pelo princípio ativo registrado para controle do patógeno em maracujá (controle positivo), independentemente da concentração avaliada (Tabela 2).

Atividade fungitóxica semelhante a *C. gloeosporioides* foi verificada com óleo essencial de manjeriço, porém somente nas concentrações intermediárias (10 e 20 µL).

TABELA 1. Efeito de extratos aquosos de camomila, chinchilho e espinheira santa sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*. Pelotas, RS. 2013.

Extratos aquosos	Concentração (v/v)			
	5	10	20	30
Camomila	0,458 ± 0,0339 a A	0,382 ± 0,0388 a B	NA	NA
Chinchilho	0,400 ± 0,0219 a A	0,532 ± 0,0466 a AB	0,565 ± 0,0611 a A	0,571 ± 0,0738 a A
Espinheira santa	0,468 ± 0,0369 a A	0,595 ± 0,0144 a A	0,445 ± 0,0827 a A	NA

Dados de crescimento micelial (cm) apresentados como média ± erro padrão de seis repetições. Dados obtidos por avaliações diárias do crescimento ortogonal durante nove dias de cultivo a 25°C, fotoperíodo diário de 12 horas.

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Extrato aquoso obtido pela infusão, por 30 minutos, de flores de camomila (100 g.L⁻¹), flores de chinchilho (300 g.L⁻¹) e de flores e folhas de espinheira santa (100 g.L⁻¹).

TABELA 2. Efeito de óleos essenciais de chinchilho e manjeriço sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*. Pelotas, RS. 2013.

Óleos	Concentração (µL)			
	5	10	20	30
Manjeriço	0,440 ± 0,0959 a A	0,000 ± 0,0000 b A	0,100 ± 0,1000 b A	0,226 ± 0,0105 ab A
Chinchilho	0,085 ± 0,0850 a B	0,000 ± 0,0000 a A	0,000 ± 0,0000 a A	0,076 ± 0,0767 a A

Dados de crescimento micelial (cm) apresentados como média ± erro padrão de seis repetições. Dados obtidos por avaliações diárias do crescimento ortogonal durante nove dias de cultivo a 25°C, fotoperíodo diário de 12 horas.

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Óleo essencial obtido pela processo de hidrodestilação por arraste com vapor d'água com extrator de Clevenger.

A análise dos constituintes fitotóxicos dos óleos essenciais de chinchilho e manjeriço deve ser efetuada de modo a elucidar o potencial dos metabólitos secundários produzidos nestas espécies cultivadas à nível regional. De fato, a quantidade e a composição química dos óleos essenciais são influenciadas por diversos fatores, entre eles, a idade da planta, o tipo de tecido, o tipo de solo onde a planta é cultivada e o seu habitat, fatores climáticos, fatores genéticos e horários de coleta do material vegetal (Silva, 2006).

A eficiência de controle de *C. gloeosporioides* com o uso de óleo essencial de chinchilho e manjeriço apontam para o desenvolvimento de produtos naturais para o manejo do patógeno em sistemas de produção de maracujá, em transição agroecológica, sendo necessário estabelecer, para tanto, as concentrações mínimas inibitórias.

Conclusões

Óleo essencial de chinchilho e manjerição apresentam forte atividade fungitóxica a *C. gloeosporioides*, com destaque para o primeiro, equivalente a proporcionada pelo princípio ativo registrado para o controle do patógeno em maracujá. Extratos aquosos de chinchilho, espinheira santa e camomila, por outro lado, não proporcionam inibição total do crescimento micelial do patógeno, independente da concentração analisada.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul – FAPERGS pela concessão da bolsa de iniciação científica (PROBIC edital 2012) do primeiro autor.

Referências bibliográficas:

- BONALDO, S.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.; TESSMANN, D.; SCAPIM, C.A Fungitoxidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.02, p.128-134, 2004.
- JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F.; FALEIRO, F.G.; PEIXOTO, J.R.; BERNATTI, L.C. Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência à doenças. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Ed.) Maracujá germoplasma e melhoramento genético. Brasília, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 80-108.
- SILVA, G.S. Substâncias naturais: uma alternativa para o controle de doenças. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 259. 2006.
- STANGARLIN, J. R. Uso de extratos vegetais e óleos essenciais no controle de doenças de plantas. **In:** Congresso Brasileiro de Fitopatologia. Maringá, p. 94-95, 2007.