

14247 - Atividade antifúngica *in vivo* do óleo essencial de *Cinnamomum camphora* var. *linaloolifera* sobre o fungo *Alternaria solani*, causador da pinta preta do tomateiro

In vivo antifungal activity of *Cinnamomum camphora* essential oil against *Alternaria solani*, causal agent of early blight on tomato.

TOMAZONI, Elisa Z.¹; RIBEIRO, Rute T.S.¹; PAULETTI, Gabriel F.¹, SCHWAMBACH, Joséli.¹

¹ Universidade de Caxias do Sul. e-mail: elisa_fzor@hotmail.com

Resumo: O uso de compostos de plantas para reduzir a severidade de doenças em várias culturas tem sido relatado. Com a intenção de estabelecer práticas alternativas de controle contra patógenos de plantas que apresentem baixa toxicidade, o objetivo deste trabalho foi estudar o óleo essencial de *Cinnamomum camphora* var. *linaloolifera* contra *Alternaria solani*, causador da pinta preta do tomateiro, em condições *in vivo*. A inibição da severidade da doença no tomateiro foi avaliada em casa de vegetação e a concentração de óleo essencial utilizada foi 2,0 µL/mL, diluído em água destilada autoclavada. Os tratamentos com óleo essencial apresentaram uma taxa de severidade que variou de 8% a 30% e para o fungicida azoxystrobin, a taxa variou de 25% a 28%, diferindo significativamente do controle, que apresentou severidade da doença de 48%. Sendo assim, o óleo essencial da espécie testada pode ser uma alternativa eficaz para controlar a pinta preta do tomateiro.

Palavras-chave: ho sho; casa de vegetação; inibição fúngica; controle alternativo; hortaliças.

Abstract: The use of plant compounds to reduce severity of diseases in many crops has been reported. In an attempt to establish alternative control practices against plant pathogen with low toxicity, the objective of this work was to study the essential oil of *Cinnamomum camphora* var. *linaloolifera* against *Alternaria solani*, that causes early blight on tomato, in *in vivo* conditions. The inhibition of disease severity on tomato was evaluated on greenhouse conditions and essential oil concentration used was 2,0 µL/mL diluted on autoclaved distilled water. Treatments with essential oil presented a severity ranging from 8% to 30% and, for fungicide azoxystrobin ranging from 25% to 28%, differing significantly from control condition which demonstrated a disease severity of 48%. Therefore, essential oil of the specie tested could be an effective alternative way to control tomato early blight disease.

Keywords: ho sho; greenhouse conditions; fungal inhibition; alternative control; vegetables.

Introdução

A cultura do tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) possui um grande valor na economia mundial, sendo uma das hortaliças de maior consumo em âmbito mundial (Figueira, 2000). Entretanto, o tomateiro é hospedeiro de muitos patógenos, como o fungo *Alternaria solani*, causador da pinta preta do tomateiro, uma das doenças fúngicas com alto poder destrutivo da tomaticultura em todo o mundo. A medida de controle para essa doença geralmente, é a aplicação de fungicidas sintéticos, que podem provocar a contaminação do ambiente, entre outros fatores (Madden et al., 1978; Lopes & Santos, 1994; Chaerani & Voorrips, 2006). Portanto, faz-se importante a procura por novos defensivos agrícolas alternativos que possam controlar doenças de plantas reduzindo a dependência a fungicidas sintéticos. Algumas técnicas de controle alternativo de doenças de plantas utilizam óleos essenciais (Kimatí et al., 1997; Fawzi et al., 2009).

A árvore de *Cinnamomum camphora* var. *linaloolifera* possui grandes quantidades de linalol em seu óleo essencial, o qual é muito utilizado em várias indústrias de alimentos, cosméticos, perfumes, sabões, detergentes, aromatizantes e na produção de vitaminas (Cansian et al., 2010). Seu óleo essencial é anti-helmíntico, antibacteriano, inseticida, repelente e antifúngico (Jantan et al., 1994; Chelliah, 2008). Resultados anteriores deste grupo demonstraram efeito antifúngico *in vitro* deste óleo essencial contra *Alternaria solani*. Diante desta situação, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do óleo essencial de *Cinnamomum camphora* var. *linaloolifera* sobre o desenvolvimento *in vivo* do fungo fitopatogênico *Alternaria solani*, causador da pinta preta do tomateiro.

Metodologia

As folhas das plantas de *Cinnamomum camphora* var. *linaloolifera* foram coletadas de plantas localizadas no Instituto de Biotecnologia - UCS. Para obtenção do óleo essencial, as folhas da espécie foram colocadas em estufa a 40°C. Após secas, o óleo essencial foi extraído pelo método de hidrodestilação em aparelho Clevenger, durante uma hora.

O isolado fúngico de *Alternaria solani* A03/09 foi isolado de tomateiro e conservado na Micoteca do Laboratório de Fitopatologia da Universidade de Caxias do Sul em meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA).

O estudo foi realizado em casa de vegetação do Instituto de Biotecnologia – UCS, de acordo com Tolentino Júnior et al. (2011). As sementes de tomate foram semeadas em bandejas de isopor com 28 células e preenchidas com substrato comercial autoclavado, as quais foram mantidas na casa de vegetação, com irrigação diária. Plântulas com seis semanas foram transplantadas para vasos contendo substrato analisado pelo Laboratório de Química e Fertilidade do Solo – UCS. A inoculação do fungo foi realizada 25 dias após o transplante (DAT), através da aspersão da suspensão de conídios sobre as plantas de tomate com um aspersor de mão, e altos níveis de umidade foram mantidos no ambiente durante 72 horas, através da aspersão de água. O teste com o óleo essencial avaliou duas condições, o efeito preventivo e o curativo do óleo essencial contra a pinta preta do tomateiro. A concentração de óleo essencial testada foi de 2,0 µL/mL, adicionado a Tween 20 (1:1) e diluído em água destilada autoclavada, para se obter uma emulsão de 100 mL. A aplicação do óleo essencial ocorreu em 10 aplicações semanais, com um aspersor de mão. Para o teste preventivo, o óleo essencial foi aplicado no mesmo momento da inoculação do fungo, e para o teste curativo, quando os sintomas apareceram nas plantas. Amistar®, que possui azoxystrobin como ingrediente ativo, foi utilizado como fungicida padrão em ambos tratamentos, seguindo a recomendação do fabricante. Como controle, as plantas foram inoculadas com o patógeno e aspergidas somente com água. Para o teste de patogenicidade, os vasos foram colocados diretamente no chão, formando 3 linhas, cada uma composta de 10 vasos, com um total de 30 vasos. Para o teste com o óleo essencial, os vasos foram colocados formando 18 linhas, cada uma composta de 5 vasos, com um total de 90 vasos. Os experimentos foram conduzidos em delineamento totalmente casualizado, com 3 repetições contendo 10 plantas, para o teste de patogenicidade, e com 6 parcelas e 3 repetições contendo 5 plantas, para o teste com óleo essencial. A severidade da doença foi determinada em 10 avaliações semanais, removendo-se três folíolos das regiões apical, mediana e basal de cada planta, começando no momento que apareceram sin-

tomas na planta. A severidade foi expressa pela área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), calculada pela equação: $AACPD = \sum (Y_{i+1} + Y_i) / 2 \times (T_{i+1} - T_i)$, onde AACPD= área abaixo da curva de progresso da doença; Y_i = taxa de severidade na observação i -th; T_i = tempo (dias) no momento da observação i -th. As taxas de severidade da doença foram atribuídas pela acuidade visual de acordo com a escala diagramática desenvolvida por Boff et al. (1991): 1- ausência de sintomas; 2- traços de sintomas até 4% de severidade; 3- entre 4% e 8% de severidade; 4- entre 8% e 16% de severidade; 5- entre 16% e 32% de severidade; 6- acima de 32% de severidade.

Resultados e discussões

O teste de patogenicidade demonstrou que o isolado A03/09 de *A. solani* foi capaz de causar doença nos tomateiros (Figura 1), com severidade inicial de 14% que aumentou para 41% aos 92 DAT (dias após o transplante), onde apresentou a severidade máxima, e após decaiu para 31% aos 112 DAT. Muitos trabalhos apresentam a patogenicidade de *A. solani* em tomate, com taxas de severidade variando entre 24% a 95% (Salustiano et al., 2006; Sallam, 2011).

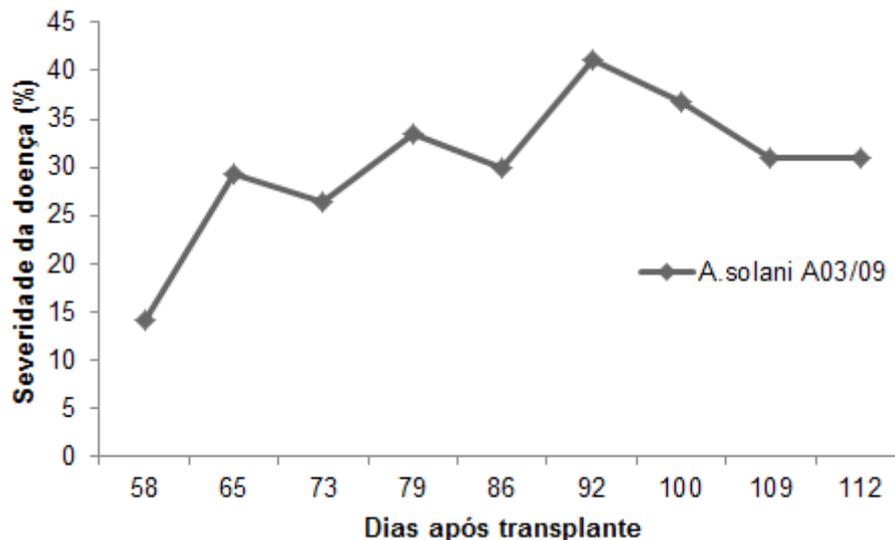


FIGURA 1. Desenvolvimento da pinta preta do tomateiro através da inoculação do isolado A03/09 de *Alternaria solani*.

O óleo essencial de *C. camphora* var. *linaloolifera* foi efetivo em controlar a pinta preta do tomateiro durante todo período de teste, quando comparado com o tratamento controle. AACPD foi significativamente reduzida aos 51 DAT para o tratamento curativo e aos 55 DAT para o tratamento preventivo, quando comparados com o controle (Tabela 1). As plantas tratadas com esse óleo essencial apresentaram severidade máxima aos 76 DAT com 30,51% para o tratamento preventivo e 24,61% para o tratamento curativo, enquanto que o controle apresentou 48,28% de severidade (Tabela 1). O fungicida azoxystrobin também inibiu o desenvolvimento da pinta preta, iniciando aos 55 DAT em ambos tratamentos até o final do período do teste. A severidade máxima foi aos 76 DAT, apresentando AACPD de 27,67 para o tratamento preventivo e 24,97 para o curativo, sendo que o controle apresentou 48,28 (Tabela 1). Os tratamentos com óleo essencial não apresentaram diferença significativa quando comparados ao fungicida azoxystrobin, sendo assim o óleo essencial apresenta eficiência similar para controlar a pinta preta

do tomateiro. O óleo essencial de *C. camphora* var. *linaloolifera* foi relatado anteriormente na literatura apresentando efeito antifúngico contra outros fungos (Hili et al., 1997; Ho et al., 2009) corroborando com a atividade antifúngica demonstrada neste estudo para pinta preta do tomateiro.

Tabela 1. Efeito preventivo e curativo do óleo essencial de *C. camphora* var. *linaloolifera* na infecção causada por *Alternaria solani* em casa de vegetação, representado pela área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD).

Dias após transplante	AACPD				
	Efeito Preventivo			Efeito Curativo	
	<i>A. solani</i> 03/09	<i>C. camphora</i>	<i>Azoxystrobin</i>	<i>C. camphora</i>	<i>Azoxystrobin</i>
43	22,00a	20,72a	17,72a	14,24a	19,76a
51	16,28a	11,52a	9,74ab	8,58b	11,52ab
55	32,795a	17,22b	14,91b	15,085b	17,08b
62	35,455a	15,575b	13,93b	12,11b	15,505b
69	36,54a	17,64b	17,50b	14,735b	17,08b
76	48,285a	30,51b	27,675b	24,615b	24,975b
85	26,425a	17,875ab	15,375b	13,175b	15,075b
90	36,40a	19,565b	20,615b	18,20b	21,49b
97	36,085a	18,20b	19,74b	20,335b	21,315b
AACPD	290,265	168,825	157,205	141,075	164,00

Valores são a média de três repetições. As letras indicam a comparação entre AACPD para cada avaliação. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0.05$).

Conclusões

Neste estudo pode-se verificar que o óleo essencial de *Cinnamomum camphora* var. *linaloolifera* apresenta atividade antifúngica capaz de inibir o desenvolvimento da pinta preta do tomateiro, doença causada pelo patógeno *Alternaria solani*, em condições de casa de vegetação, similarmente ao fungicida testado. Conclui-se também, que este óleo essencial pode ser um candidato ao desenvolvimento futuro de um agente antifúngico que não prejudique o meio ambiente.

Agradecimentos

O financiamento para esta pesquisa foi fornecido pela Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Agradecemos a técnica Márcia Regina Pansera pela ajuda no trabalho de desenvolvimento dos fungos e à Universidade de Caxias do Sul.

Referências bibliográficas:

BOFF, P.; ZAMBOLIM, L. & VALE, F.X.R. Escalas para avaliação de severidade da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*) e da pinta-preta (*Alternaria solani*) em tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, 16: 280-283, 1991.

CANSIAN, R.L.; MOSSI, A.J.; OLIVEIRA, D.; TONIAZZO, G.; TREICHEL, H.; PAROUL, N.; ASTOLFI, V. & SERAFINI, L.A. Atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de ho-sho (*Cinnamomum camphora* Ness e Eberm var. *linaloolifera* fujita). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 30(2): 378-384, 2010.

- CHAERANI, R. & VOORRIPS, R.E. Tomato early blight (*Alternaria solani*): the pathogen, genetics, and breeding for resistance. **Journal of General Plant Pathology**, 72: 335-347, 2006.
- CHELLIAH, D.A. Biological activity prediction of an ethno medicinal plant *Cinnamomum camphora* through bio-informatics. **Ethnobotanical Leaflets**, 12: 181-190, 2008.
- FAWZI, E.M.; KHALIL, A.A. & AFIFI, A.F. Antifungal effect of some plant extracts on *Alternaria alternata* and *Fusarium oxysporum*. **African Journal of Biotechnology**, 8(11): 2590-2597, 2009.
- FIGUEIRA, F.A.R. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: UFV, 2000.
- HILI, P.; EVANS, C.S.; VENESS, R.G. Antimicrobial action of essential oils: the effect of dimethylsulphoxide on the activity of cinnamon oil. **Letters in Applied Microbiology**, 24: 269-275, 1997.
- HO, C-L.; WANG, E.I-C; SU, Y-C. Essential oil compositions and bioactivities of the various parts of *Cinnamomum camphora* Sieb. var. *linaloolifera* Fujuta. **For Research**, 31(2): 77-96, 2009.
- JANTAN, I.; ALI, R.M. & HOCK, G.S. Toxic and antifungal properties of the essential oils of *Cinnamomum* species from Peninsular Malaysia. **Journal of Tropical Forest Science**, 6(3): 286-292, 1994.
- KIMATI, H.; GIMENEZ-FERNANDEZ, N.; SOAVE, J.; KUROZAWA, C.; BRIGNANI Neto, F. & BETTIOL, W. Guia de Fungicidas Agrícolas – Recomendações por Cultura. Vol.1. 2 ed. Jaboticabal: Grupo Paulista de Fitopatologia, 1997.
- LOPES, C.A. & SANTOS, J.R.M. Doenças do Tomateiro. Brasília: Embrapa Centro Nac. Pesq. De Hortaliças, 1994.
- MADDEN, L.; PENNYPACKER, S.P. & MACNAB, A.A. FAST, a forecast system for *Alternaria solani* on tomato. **Phytopathology**, 68: 1354-1358, 1978.
- SALLAM, N.M.A. Control of tomato early blight disease by certain aqueous plant extracts. **Plant Pathology Journal**, 10(4): 197-191, 2011.
- SALUSTIANO, M.E., VALE, F.X.R., ZAMBOLIM, L., & FONTES, P.C.R. O manejo da pinta preta do tomateiro em épocas de temperaturas baixas. **Summa Phytopathologica**, 32: 353-359, 2006.
- TOLENTINO JÚNIOR, J.B.; REZENDE, R.; ITAKO, A.T.; FREITAS, P.S.L. & FRIZZONE, J.A. Drip fungigation in early blight control tomato. *Acta Scientiarum Agronomy*. 33: 9-14, 2011.