

16296 - Uso de Substâncias Alternativas no Controle do Fungo *Fusarium solani*

Use of Alternative Substances for the Control of Fungus Fusarium solani

FERNANDES, Orranes Gonçalves¹; VIEIRA, Gustavo Haralampidou da Costa¹; VIEIRA, Flávia Elisa da Costa²; DIAS, Pamela Mingotti¹

¹Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Cassilândia - MS, orranes.goncalves@hotmail.com; gcv@uems.br; ²Universidade Anhanguera - Uniderp, Campo Grande - MS.

Resumo: Objetivou-se determinar a ação dos óleos essenciais e óleo de nim sobre *Fusarium solani*, patógeno esse responsável pela podridão vermelha da raiz da soja, que tem potencial para causar até 70% de perda na lavoura. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 6 x 5, com seis óleos essenciais (óleos de canela, hortelã, cedro, eucalipto, lemongrass e nim) cinco concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%) com cinco repetições. Nos testes *in vitro* micélios fúngicos oriundos da colônia pura foram transferidos para placas de Petri contendo o meio de cultura BDA (Batata-dextrose-água) acrescido das diferentes substâncias nas respectivas concentrações. Os tratamentos foram mantidos em câmara climatizada a temperatura de 28°C e fotofase de 12 horas. O efeito das substâncias sobre o fungo foi determinado através do desenvolvimento da colônia, obtido a partir de quatro períodos da repicagem (48, 72, 96 e 120h). Os óleos essenciais de canela, lemongrass e hortelã foram eficientes no controle do fungo *F. solani*, com destaque para a canela que desde a menor dose testada inibiu completamente o desenvolvimento desse patógeno.

Palavras-chave: atividade fungicida, tratamento alternativo, hortaliças.

Abstract: The present study objetived to determine the potential of different essential oils in control *in vitro* of the fungus *Sclerotium rolfsii*. The experimental design applied was the completely randomized (CRD) in a 6 x 5 factorial scheme (oils of eucalyptus, citronella, clove, anise, palmarosa and neem) five doses (0, 25, 50, 75 and 100µL.L⁻¹), five times. The fungicidal effect of the essential oils was determined by adding such substances in these concentrations to the culture medium potato-dextrose-agar. Four discs of 3 mm diameter agar colonized by fungus derived from pure culture were transferred to plates containing treatments, being kept in BOD at 28 ° C for 96 hours. The evaluations were performed after 48, 72, 96 and 120 hours of chiming, measuring the colony diameter (average of two diametrically opposed measures). The oils of palmarosa, citronella and clove exhibited inhibitory effect on the fungus *S. rolfsii*, being potentially viable alternative in the control of this pathogen.

Keywords: fungicidal activity, alternative treatment, vegetables.

Introdução

Dentre as várias doenças que acometem a cultura da soja no Brasil, destaca-se a Podridão Vermelha da Raiz (PVR) causada pelo fungo *Fusarium solani*. Na safra 1997/1998 o patógeno causou perdas aproximadas de 200.000 t que somavam o montante de 57,6 milhões de dólares no Brasil (YORINO, 1998).

O fungo da PVR ataca o sistema radicular das plantas, não demonstrando sintomas imediatos na parte aérea. Por ser um fungo de solo ainda não se conhece formas eficientes de controle desse patógeno, entretanto, uma das alternativas utilizadas atualmente é o uso de cultivares resistentes ao fungo (CHANG et al., 1996).

Os óleos essenciais, que de acordo com ISO (INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION) são substâncias extraídas de partes de plantas aromáticas através da destilação por meio de vapor d'água, possuem compostos fenólicos utilizados no processo de controle microbiano (SINGH et al., 2002). Segundo Piper et al. (2001), essas substâncias em contato com microrganismos deixam suas células mais permeáveis, ocasionando a vazão de seus constituintes. Pesquisas realizadas por Abreu (2006) mostraram que os óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* (Capim limão) e *Eucalyptus citriodora* (eucalipto) foram eficientes no controle da *F. solani*, e é uma alternativa sustentável para o controle desse fungo.

O extrato de nim (*Azadirachta indica*) possui ações fungicidas e inseticidas reconhecidas, além de baixa toxicidade a vertebrados (MARTINEZ, 2002). Nos últimos anos o extrato de nim tem sido muito estudado quanto a sua eficácia no controle de fungos como *Pyricularia oryzae* (AMADIOHA, 2000), *Erysiphe pisi* (SINGH; PRITHIVIRAJ, 1997), *Plasmopara viticola* (STEINHAEUER, 1999) e *Alternaria helianthi* (CHATTOPADHYAY, 1999), responsáveis por grandes perdas nas culturas agrícolas.

O presente estudo objetivou determinar o efeito de diferentes óleos essenciais no controle do fungo *F. solani*, causador da podridão vermelha da raiz na soja.

Metodologia

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fitossanidade da UEMS, Unidade Universitária de Cassilândia/MS (19° 06' 48" S; 51° 44' 03" W), de março/2013 a julho/2014.

Obtenção do fungo *Fusarium solani*

O patógeno foi obtido da micoteca da UEMS, UUC. Em seguida, o fungo foi repicado em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar), sendo mantido em câmara climatizada na temperatura de 27°C e fotoperíodo de 12h e umidade de 50% para a



obtenção de colônias puras que foram utilizadas para os testes com os diferentes tratamentos.

Tratamentos

Óleos Essenciais

Foram testados os óleos essenciais de canela, cedro, eucalipto e lemongrass (*Cymbopogum citratus*), diluídos em água destilada nas concentrações de 0, 25, 50, 75 e 100%, conforme metodologia proposta por Santos et al. (2010). Os óleos foram adquiridos da empresa Oficina de Ervas, registrada na Anvisa sob o nº CEVS 354340218-477-000401-1-8. O óleo de nim utilizado neste estudo é comercializado pela Natural Rural pelo nome comercial de NATUNEEM®. Esse produto é composto por óleo extraído da prensagem das sementes a frio. Para os testes, o óleo foi diluído nas mesmas concentrações apresentadas para as outras substâncias.

Efeito fungicida dos óleos essenciais

O efeito fungicida dos óleos essenciais foi determinado acrescentando-se as mesmas nas concentrações de 0, 25, 50, 75 e 100% ao meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar). Quatro discos de 3 mm de diâmetro de ágar, colonizados pelo fungo (colônia pura), foram transferidos para as placa de Petri contendo meio de cultura com os diferentes tratamentos, e foram mantidas em câmara climatizada à temperatura de 27°C e fotoperíodo de 12h e umidade 50%. O crescimento do fungo nos meios de cultura com as referidas substâncias foi avaliado 48, 72, 96 e 120 h após da repicagem, medindo-se o diâmetro da colônia (média de duas medidas diametralmente opostas). Paralelo aos testes foi mantido dois grupos, sendo o controle composto apenas pelo meio BDA e o outro composto pelo fungicida. O delineamento experimental será inteiramente casualizado, em esquema fatorial 6 x 5 com seis substâncias (canela, cedro, hortelã, eucalipto, lemongrass e nim) em cinco concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%), com cinco repetições/tratamento. Os dados foram analisados pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Resultados e discussões

Os efeitos do nim e óleos essenciais sobre o fungo *F. solani* estão dispostos na Tabela 1. Para o primeiro período de avaliação, os óleos de hortelã, lemongrass e canela foram altamente eficientes no controle do fungo desde a menor dose testada. Assim, comparado os resultados obtidos para cada dose testada, obteve-se para a dose de 25% diferenças significativas das três substâncias em relação as demais e do óleo de cedro, que com valor intermediário diferiu dos óleos de nim e eucalipto que não diferiram entre si. Para a dose de 50% os resultados obtidos para o nim foram semelhantes ao cedro e diferentes do eucalipto, tendo todos diferido dos demais tratamentos. Nas doses de 75 e 100%, o eucalipto e cedro foram

Tabela 1. Efeito fungicida do nim e diferentes óleos essenciais sobre o fungo *Fusarium solani*. Cassilândia/MS, 2014.

Primeira avaliação (48 horas)						
Doses	Nim	Eucalipto	Cedro	Lemongrass	Hortelã	Canela
0	1,76 aA	1,79 aA	1,79 aA	1,79 aA	1,79 aA	1,79 aA
25	1,77 aA	1,76 aA	1,04 bB	0,00 cB	0,00 cB	0,00 cB
50	1,48 aA	0,70 bB	1,90aA	0,00cB	0,00cB	0,00cB
75	1,71aA	1,02bB	1,24bB	0,00cB	0,00cB	0,00cB
100	1,68aA	0,79bB	1,10bB	0,00cB	0,00cB	0,00cB
CV (%) = 27,52						
F = 146,50**						
Segunda avaliação (72 horas)						
Doses	Nim	Eucalipto	Cedro	Lemongrass	Hortelã	Canela
0	2,44aA	2,46aA	2,44aA	2,44aA	2,46aA	2,46aA
25	2,12abA	2,37bA	1,62aB	0,00cB	0,00cB	0,00cB
50	2,14aA	0,94bC	1,72aB	0,00cB	0,00cB	0,00cB
75	2,38aA	1,66bB	1,56bB	0,00cB	0,00cB	0,00cB
100	2,19aA	1,34bBC	1,83abB	0,00cB	0,00cB	0,00cB
CV (%) = 23,06						
F = 180,92**						
Terceira avaliação (96 horas)						
Doses	Nim	Eucalipto	Cedro	Lemongrass	Hortelã	Canela
0	3,12aA	3,04aA	3,04aA	3,12aA	3,00aA	3,10aA
25	2,67aAB	3,15aA	1,81bBC	1,14cB	0,81cB	0,00dB
50	2,57aB	1,59bcC	2,09abB	1,41cB	0,00dC	0,00dB
75	2,97aAB	2,23bB	1,54cC	0,00dc	0,00dC	0,00dB
100	2,65aAB	1,90bBC	1,88bBC	0,00cC	0,00dC	0,00dB
CV (%) = 18,85						
F = 208,81						
Quarta avaliação (120 horas)						
Doses	Nim	Eucalipto	Cedro	Lemongrass	Hortelã	Canela
0	3,63aA	3,94aA	3,56aA	3,58 aA	3,55 aA	4,00aA
25	3,22aA	3,89aA	2,37bB	1,42cB	1,09cB	0,00dB
50	3,37aA	1,84bcC	2,46bB	1,57cB	0,00dC	0,00dB
75	3,51 aA	2,85 abB	2,21bB	0,00cC	0,00cC	0,00cB
100	3,37aA	2,26bBC	2,33bB	0,00cC	0,00cC	0,00cB
CV (%) = 19,52						
F = 195,30**						

*Letras iguais minúsculas nas linhas e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.



semelhantes, diferindo do nim e dos óleos de hortelã, lemongrass e canela, não havendo diferenças significativas para os três últimos.

Para o segundo período de avaliação a eficiência observada para os óleos de hortelã, lemongrass e canela foi mantida, sendo nulo o crescimento micelial do fungo nesses tratamentos desde a menor dose testada. Assim, para a concentração de 25%, o óleo de eucalipto não diferiu do nim, que por sua vez não diferiu do cedro, tendo os três diferido dos demais tratamentos. Na concentração de 50%, as diferenças foram dos óleos de neem e cedro em relação ao eucalipto, tendo os três diferido dos demais. Para 75% o eucalipto e cedro semelhantes entre si diferiram do nim, tendo os três diferido dos demais tratamentos. Para a concentração de 100% as diferenças foram do nim em relação ao eucalipto, sendo ambos semelhantes ao cedro. Nesta concentração os três óleos mencionados diferiram dos demais tratamentos.

Nas avaliações subsequentes, a eficiência dos óleos de hortelã, lemongrass e canela foi mantida, porém a partir da concentração de 75%. Para o terceiro período de avaliação, na menor concentração estudada a canela com crescimento micelial igual a zero diferiu dos demais tratamentos, seguido pelo hortelã e lemongrass que não diferiram entre si, porém diferiram dos demais. Já o nim e eucalipto foram semelhantes entre si, porém diferente do cedro, tendo os três diferido dos demais tratamentos. Para a concentração de 50%, a hortelã voltou a inibir completamente o desenvolvimento micelial do fungo, não diferindo da canela, tendo ambos diferido dos demais tratamentos. Já o cedro não diferiu do nim e nem do eucalipto, sendo este último semelhante ao lemongrass. Para a concentração de 75%, lemongrass também voltou a apresentar os melhores resultados inibitórios sobre o fungo, não diferindo dos resultados observados para o hortelã e canela, tendo os três diferido dos demais tratamentos que também diferiram entre si. Para a concentração de 100%, as semelhanças entre os resultados obtidos para lemongrass, canela e hortelã foram mantidas, assim como para os óleos de cedro e eucalipto, tendo os dois grupos diferidos do nim.

Para o último período de avaliação, o óleo de canela manteve sua elevada ação inibitória sobre o fungo, inibindo seu desenvolvimento desde a menor dose testada. Para a concentração de 25%, as diferenças observadas na avaliação anterior foram mantidas. Na concentração de 50% as substâncias hortelã e canela com os índices de inibição total não diferiram entre si, diferindo dos demais tratamentos. Lemongrass não diferiu do eucalipto, que por sua vez não diferiu do cedro, tendo os três diferido do nim que diferiu dos demais tratamentos. Nas concentrações subsequentes, os resultados obtidos para lemongrass assemelharam-se aos obtidos para hortelã e canela, tendo os três os melhores índices de inibição do patógeno. Para 75%, as diferenças foram deles em relação aos demais. Ainda nessa concentração o cedro não diferiu do eucalipto, que por sua vez não diferiu do nim.



Para a concentração de 100%, as diferenças observadas na avaliação anterior foram mantidas.

Quando comparado o efeito inibitório das substâncias em relação às diferentes concentrações, observa-se que para a primeira avaliação não há diferenças entre os resultados obtidos para os óleos de lemongrass, hortelã e canela, visto que o fungo foi inibido completamente desde a menor dose testada. Já o nim não exerceu qualquer influência negativa sobre o fungo, visto que todos os resultados foram semelhantes à testemunha. O eucalipto apresentou um discreto efeito inibitório a partir da dose de 50%, sendo observadas diferenças apenas do grupo controle e menor dose em relação às demais, que não diferiram entre si. Já o cedro não apresentou um padrão de inibição, havendo semelhanças entre as duas últimas doses e a primeira, que diferiram das demais.

No segundo período de avaliação os óleos de lemongrass, hortelã e canela mantiveram os altos índices inibitórios apresentados no primeiro período, não apresentando diferenças significativas entre as concentrações estudadas. Para o nim os resultados obtidos não diferiram da testemunha. Por outro lado, para o cedro todos os resultados foram diferentes da testemunha embora semelhantes entre si, e para o eucalipto observa-se que a menor dose estudada não diferiu do controle, assim como os resultados obtidos para as concentrações de 50 e 100%, sendo esta última semelhante ao resultado obtido para 75%.

Para o terceiro período de avaliação, como já mencionado anteriormente, apenas a canela manteve seus elevados índices de inibição, não havendo diferenças entre as doses estudadas. Para a hortelã, as três últimas doses também inibiram em 100% o fungo, não diferindo entre si, porém diferindo das doses inferiores. Já o lemongrass, as semelhanças observadas foram para as duas últimas doses, com 100% de inibição e as duas doses inferiores, tendo ambas diferido da testemunha. Para o nim, a concentração de 50% apresentou o menor valor de crescimento micelial, tendo diferido da testemunha, porém semelhante aos demais tratamentos, que não diferiam da testemunha. Para o eucalipto, a menor dose não diferiu da testemunha, assim como os resultados obtidos para 50 e 100%, sendo este último semelhante ao resultado obtido para 75% que diferiu dos demais tratamentos. Para o cedro as semelhanças foram das doses de 25, 50 e 100, assim como 25, 100 e 75, tendo todas diferido da testemunha.

Para o último período de avaliação, os resultados obtidos para a canela, hortelã e lemongrass foram semelhantes aos observados para o terceiro período de avaliação. Para o cedro, os resultados obtidos para as concentrações foram semelhantes entre si, porém distintos da testemunha. Os resultados obtidos para o nim não diferiram entre si e nem da testemunha, sugerindo que essa substância não influencia negativamente o desenvolvimento do fungo. Para o eucalipto, as semelhanças observadas foram da menor dose em relação à testemunha e da

concentração de 25 e 100%, sendo o resultado observado para esta última semelhante ao resultado obtido para 75%.

Muitos são os estudos que sugerem o efeito fungicida dos óleos essenciais, assim como estudos onde nem sempre esses resultados são satisfatórios. Souza et al. (2004) observaram que o óleo essencial de canela na concentração de 500 µg/mL inibe o crescimento micelial dos fungos *Rhizopus* sp., *Penicillium* spp., *Eurotium repens* e *Aspergillus niger*.

Dias-Arieira et al. (2010) determinaram o efeito do óleo de eucalipto no controle do fungo *Colletotrichum acutatum*, obtendo resultados satisfatórios nas dosagens de 1,0 a 1,5%. Semelhante aos resultados obtidos neste estudo, Frias e Kozusny-Andreani (2010), observaram que os óleos essenciais de romã, manga e eucalipto possuem ação fungicida, sendo uma importante alternativa no controle de *Microsporium canis*.

Pinto et al. (2010) determinaram o efeito do óleo essencial de cravo nas dosagens de 25, 50 e 75 mL.L⁻¹ sobre o crescimento micelial do fungo *Colletotrichum gloesporioides* isolado de manga, obtendo resultados satisfatórios.

Outro estudo com esse mesmo fungo foi realizado por Silva et al. (2012), que estudaram o efeito fungitóxico do óleo essencial de cravo obtendo a inibição total do patógeno mesmo em baixas concentrações. O óleo de cravo também apresentou eficiência no controle de outros patógenos, como no trabalho realizado por Olanda et al. (2012), onde essa substância foi eficiente no controle do fungo *Colletotrichum lindemuthianum*.

Por outro lado, Neto et al. (2012) observaram que o óleo essencial de anis não inibiu os fungos presentes nas sementes de erva doce. No trabalho desenvolvido por Brum (2012), o nim foi ineficiente no controle do fungo *Pyricularia grisea*. No entanto, a ineficiência desse extrato no controle de fungos já foi relatada em outros estudos como Silva et al. (2012) e Araújo et al. (2014). Segundo Silva et al. (2012), o extrato de nim não é eficiente quando comparado ao extrato de outras espécies vegetais.

Conclusões

Os óleos essenciais de hortelã, lemongrass e canela foram eficientes no controle do fungo *Fusarium solani*, sendo o óleo de canela o mais promissor dentre todos.

Esses óleos podem ser viáveis no controle alternativo desse patógeno, tornando-se uma importante ferramenta nos programas de manejo integrado de pragas.

Agradecimentos



A Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação pelo apoio financeiro concedido.

Referências bibliográficas

ABREU, C, L, M., **Controle de *Alternaria solani* em tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) com óleos essenciais**. 2006 - Tese (Doutorado em Agronomia-Horticultura) Universidade Estadual Paulista "Julho Mesquita Filho"; Botucatu. 2006.

Araújo, E. R.; Harand, W.; Lima, I. C.; Dias, F. C. R.; Santana, A. A. D.; Carvalho, R. R. C.; Laranjeira, D. Extratos de *Piper marginatum* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum scovillei* em pimentão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 2, p. 88-94, 2014.

BRUM, R.B.C.S. **Efeito de óleos essenciais no controle de fungos fitopatogênicos**. MESTRADO EM PRODUÇÃO VEGETAL: UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS, CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE GURUPI, Gurupuri/TO. Jan. 2012.

CHANG, S.J.C., DOUBLER, V.K., SUTTNER, R., KLEIN, J., SCHMIDT, M.E., GIBSON, P.T. & LIGHTFOOT, D.A. Two additional loci underlying durable field resistance to soybean sudden death syndrome. **Crop Science**, v. 36, p. 1684-1688, 1996.

DIAS-ARIEIRA, C.R.; FERREIRA, L.R.; ARIEIRA, J.O.; MIGUEL, E.G.; DONEGA, M.A.; RIBEIRO, R.C.F. Atividade do óleo de *Eucalyptus citriodora* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum acutatum* em morangueiro. **Summa Phytopathologica**, v.36, n.3, p.228-232, 2010.

FRIAS, D.F.R.; KOZUSNY-ANDREANI, D.I. Utilização de extratos de plantas medicinais e óleo de *Eucalyptus* no controle *in vitro* de *Microsporum canis*. **Rev Cubana Plant Med**, v.15, n.3, p.119-125, 2010. Disponível em: <http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol_15_3_10/pla03310.htm>. Acesso em: 02 agosto 2014.

MARTINEZ, S. S. **O Nim – *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção**. Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná, 2002. 142p.

NETO, A. C. A.; ARAÚJO, P. C.; SOUZA, W.C.O.; AGUIAR, A.V.M.; MEDEIROS, J. G. F. Óleo Essencial de Anis na incidência e controle de patógenos em



sementes de erva-doce (*Foeniculum vulgare* Mill.). **Revista Verde**, Mossoró-RN, v. 7, n. 1, p. 170 – 176. 2012.

OLANDA, G.B.; SANTIAGO, M.F.; ANTUNES, I.F.; BEVILAQUA, G.A.P.; FARIAS, C.R.J. Atividade fungitóxica de 35 óleos essenciais de plantas sobre *Colletotrichum lindemuthianum* (SACC. & MAGNUS.) BRIOSI & CAVARA isolado de feijão. **Anais...**In:14 Encontro de Pós-graduação, 2012, Pelotas. Universidade Federal de Pelotas, 2012.

PINTO, J. M. A. et al. Pathogenicity and virulence of *Colletotrichum lindemuthianum* isolates. **Annual Report of the bean Improvement Coppersative**, v. 53, n. 1, p. 228-229, 2010.

PIPER, P.et al. Weak acid adaptation: the stress response that confers resistance to organic acid food preservatives. **Microbiology**, v. 147, p. 2635–2642, 2001.

SILVA, J.L. da; TEIXEIRA, R.N.V.; SANTOS, D.I.P.; PESSOA, J.O. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o crescimento in vitro de fitopatógenos. **Revista Verde**, v.7, p.80-86, 2012.

SINGH, N. et al. Efficacy of chlorine dioxide, ozone and thyme essential oil or a sequential washing in killing *E. coli* O157:H on lettuce and baby carrots. **Lebensmittel - Wissenschaft &Technology**. London, v. 35, p. 720-729, 2002

SOUZA, S.M.C.; PEREIRA, M.C.; ANGÉLICO, C.L.; PIMENTA, C.J. Avaliação de óleos essenciais de condimentos sobre o desenvolvimento micelial de fungos associados a produtos de panificação. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v.28, n.3, p.685-690, 2004.

YORINORI, J.T. Podridão vermelha da raiz da soja (SDS) (*Fusarium solani* f. p. *glycines*) no Brasil e sua importância econômica. **Fitopatologia Brasileira** v. 23, p. 298-299. 1998.