



Efeito dos Óleos Essenciais Sobre o Crescimento Micelial *in Vitro* de *Colletotrichum* spp.

Essential Oil Effects About the Mycelial Growth Colletotrichum spp.

SILVA, Brenda Virgínia Sanches¹; PAIVA, Gabriel Ferreira¹; BARBIERI, Tayane Patrícia Oliveira Malanski¹; SOUZA, Gustavo Henrique Silveira¹; GONÇALVES, Francisco José Teixeira¹.

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul – Campus Nova Andradina. MS, brendasanches97@hotmail.com; gabrielfpaiva2009.gf@gmail.com; tayane.oliveira@novaanandradina.org; gu.ssouza99@gmail.com; goncalvestfj@gmail.com.

Resumo: A maçã é uma fonte saudável para os seres humanos, possuindo vários benefícios para controlar doenças. Sua produção é favorável em climas temperados, por possuir estações bem definidas. Ao manusear essa fruta sensível deve-se ter cuidados para não ocorrer ferimentos, ocasionando a penetração dos fungos. O *Colletotrichum* spp. é uma doença de pós-colheita, sendo causador de antracnose, caracterizada por lesões necróticas, escuras e deprimidas nas cascas das frutas. Esse trabalho teve como objetivo testar o efeito dos óleos essenciais de *Mentha arvensis* e *Eucalyptus citriodora* no desenvolvimento deste patógeno. O isolado foi obtido pelas lesões que este fungo ocasionou no fruto. O experimento foi realizado *in vitro*, utilizando 5 concentrações (0, 50, 100, 500, 1000 ppm), colocados em placas de Petri com o BDA (Batata-Dextrose-Ágar), com 3 repetições cada, sendo avaliado o efeito desses óleos na porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC). Os resultados obtidos sobre a inibição do crescimento de *Colletotrichum* spp. da maçã com óleos essenciais de *Mentha arvensis* e *Eucalyptus citriodora* foram satisfatórios, apresentado compostos capazes de reduzir seu crescimento micelial.

Palavras-chave: Maçã, Antracnose, *Mentha arvensis*, *Eucalyptus citriodora*.

Abstract: Apple this a source healthy for human beings, it has several benefits for controlling diseases. Your production is favorable in temperate climates, by keep seasons well defined. When handling this fruit sensible must have caution for not to occur injury, causing the penetration of fungi. *Colletotrichum* spp is a disease of post harvest, being causer of anthracnose, characterized by necrotic lesions, dark and depressed in the peel of fruit. This paper aimed at test the effect of essential oils *Mentha arvensis* and *Eucalyptus citriodora* in development of this pathogen. The experiment was performed *in vitro*, using 5 concentrations (0, 50, 100, 500 e 1000 ppm) from two oils mixed to culture medium BDA (Potato-Dextrose-Ágar), being analyzed this oil effects in percentage of inhibition mycelial growth (PIC). The results obtained about the mycelial growth *Colletotrichum* spp. of apple with essential oils of *Mentha arvensis* and *Eucalyptus citriodora*, were satisfactory, presenting compounds capable of reducing your mycelial growth.

Keywords: Apple, Anthracnose, *Mentha arvensis*, *Eucalyptus citriodora*.



Introdução

A cultura da maçã possui características de clima temperado, tendendo a ter estações bem definidas com o inverno muito frio, segundo a Pomi Frutas (empresa que produz e comercializa maçãs *in natura* e processadas). Por ter essas características bem definidas favorece a indução de repouso em baixas temperaturas, dessa forma estimula a floração e maturação do fruto, após sair do repouso, quando o frio está intenso.

No Brasil, a capacidade de armazenamento de maçãs é de 511.525 toneladas, cerca de 60% da produção nacional, com boa parte dessa capacidade instalada em Santa Catarina, de acordo com o SEBRAE (2018).

Segundo a eCycle (marca com interesse no consumo e desenvolvimento entre indivíduos e empresas), a maçã representa um sinônimo de saúde, por ser usado nas dietas, possuir um teor baixo de calorias e possuir vitaminas em sua casca, possui benefícios como a redução de problemas intestinais, reduz doenças respiratórias e de pele, além de ser essencial para pessoas diabéticas por controlar os níveis de insulina, entre outros itens importantes para uma vida saudável.

Além da maçã, várias frutíferas são suscetíveis a diversos fungos na fase de produção e pós-colheita. Muitas vezes quando vamos ao mercado visualizamos manchas escuras, necroses e podridões nos frutos, sendo inapropriadas para o consumo. Quando se tem o manuseio inadequado no transporte, armazenamento e quando apresenta alta umidade e temperatura, favorece a penetração de patógenos e conseqüentemente o desenvolvimento dos sintomas já citados. (FERRARI, et al., 2011).

A doença conhecida como antracnose é causada por fungos do gênero *Colletotrichum* spp., nas maçãs costumam ocasionar lesões circulares e deprimidas, de tamanhos diferentes, muitas vezes apresentam conídios alaranjados, essas lesões tendem a iniciar ou aumentar na pós-colheita, onde o fruto está sendo preparado para o comércio. (SOUZA et. al., 2012).

O uso em excesso de fungicidas sem as recomendações necessárias tem ocasionado a manifestação de populações resistentes de patógenos de plantas, dessa forma os produtores rurais aumentam cada vez mais as doses para controlar as doenças. (SILVA et. al., 2008).

A utilização de produtos naturais de origem vegetal vem se destacando no controle de doenças de plantas. O uso de óleos essenciais está apresentando resultados significativos no controle de fungos, além de ser de baixa toxicidade a mamíferos. (SILVA; BASTOS, 2007).



Este trabalho teve por objetivo realizar o teste de óleos essenciais sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum* spp. isolados de maçãs, podendo inferir sobre seu efeito fungitóxico sobre o crescimento deste fungo.

Metodologia

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Biologia do Instituto Federal de Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul, Campus Nova Andradina, localizado na Fazenda Santa Barbara, Rodovia MS 473, Km 23.

Isolamento do patógeno causador da doença e obtenção dos óleos essenciais O isolado foi obtido através das lesões típicas encontradas na casca da maçã, sendo transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar) e colocados na B.O.D a temperatura de 25°C. Após o crescimento foram retirados fragmentos e transferidos para outra placa com BDA e incubado nas condições já citadas).

O método utilizado foi o isolamento direto que proporciona obter o organismo puro sem microrganismos saprófitas presentes no tecido, dessa forma conseguimos saber qual organismo foi levado ao meio. (ALFENAS, 2007).

O fungo foi identificado através da caracterização morfológica, onde realizou a avaliação de suas formas, dimensões dos conídios e apressórios do isolado. (TOZZE JUNIOR, MELLO e MASSOLA JUNIOR, 2006).

Os óleos essenciais foram obtidos comercialmente na indústria química Ferquima. Teste *in vitro* dos óleos essenciais sobre a inibição do crescimento do *Colletotrichum* spp. Os óleos essenciais foram adicionados ao meio de cultura BDA impulsionados com a solução tween 20 a 2%, obtendo as concentrações de (0, 50, 100, 500 e 1000 ppm) e vertidos em placas de Petri de 9cm de diâmetro. No centro da placa foi adicionado um disco da colônia com o crescimento fúngico com 5 dias de idade. A testemunha foi um disco igual dos outros tratamentos, submetidos em placas de Petri com BDA+solução tween 20 a 2% e sem óleo essencial. Logo após seu preparo as placas foram incubadas na temperatura de 25°C. As avaliações ocorreram a cada 48 horas durante 6 dias, feitas medições em dois sentidos opostos, com o auxílio de uma régua milimetrada, obtendo uma média para cada repetição assim possibilitando determinar a porcentagem de inibição do crescimento micelial.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com esquema fatorial dois óleos essenciais (*Mentha arvensis* e *Eucalyptus citriodora*) x cinco concentrações (0, 50, 100, 500 e 1000 ppm). Para cada tratamento foram feitas três repetições.



Os dados foram submetidos ao teste de variância, sendo as médias comparadas com o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para calcular o PIC foi utilizada seguinte fórmula: $PIC = (\text{diâmetro da testemunha} - \text{diâmetro do tratamento}) / (\text{diâmetro da testemunha}) \times 100$.

Resultados e discussão

Estudos realizados com óleos essenciais e extratos aquosos adquiridos de espécies vegetais tem se mostrado eficazes, no controle de doenças pós-colheita como a antracnose em frutíferas, devido à ação fungitóxicas. (RAMOS, 2014).

Os resultados obtidos sobre a inibição do crescimento de *Colletotrichum* spp. da maçã com óleos essenciais de *Mentha arvensis* e *Eucalyptus citriodora* foram satisfatórios, apresentado compostos capazes de reduzir seu crescimento micelial. Podemos visualizar os resultados na Tabela 1 e Figuras 1 e 2.

Tabela 1. Crescimento micelial do fungo *Colletotrichum* spp. na presença de dois óleos essenciais em diferentes concentrações. Letras maiúsculas na vertical e minúsculas na horizontal não diferem significativamente no teste de Tukey a 5%.

Crescimento micelial (cm)		
Concentração (ppm)	<i>Mentha arvensis</i>	<i>Eucalyptus citriodora</i>
50	5,05 bA	5,43 bA
100	5,72 bA	5,15 bA
500	2,62 cB	3,77 cA
1000	0 dE	0 dE
Testemunha	7,5 aA	7,5 aA

O óleo *Eucalyptus citriodora*, diminuiu o crescimento micelial do patógeno proporcionalmente com o aumento de sua concentração (Gráfico 1).

Concluíram que o extrato de eucalipto controla a antracnose em pepino, causada pelo *Colletotrichum lagenarium* pela sua propriedade antifúngica. (BONALDO et al., 2004). O óleo não permitiu a germinação e a formação de apressórios em *Colletotrichum sublineolu*. (MORAIS, 2009).

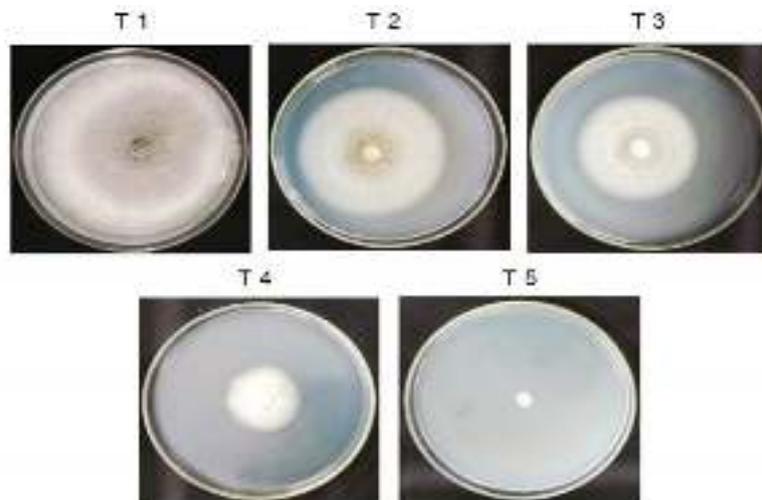


Figura 1. Crescimento micelial de *Colletotrichum* spp. na presença do óleo essencial de *Mentha arvensis*. T1: Testemunha; T2: 50 ppm; T3: 100 ppm; T4: 500 ppm e T5: 1000 ppm.

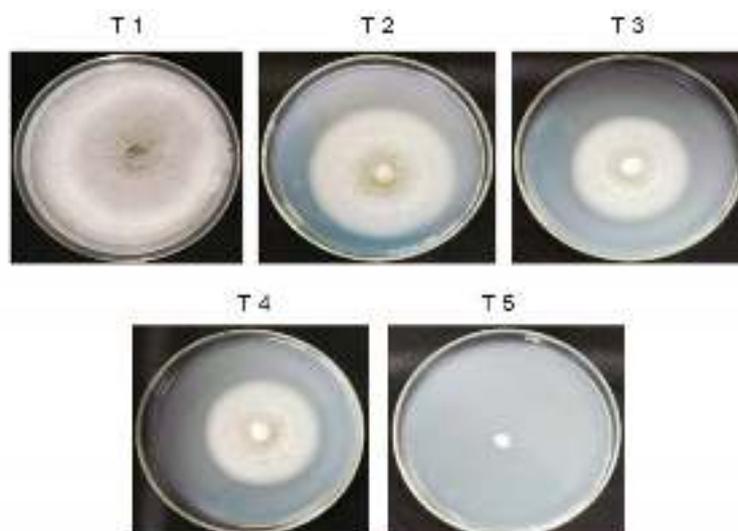


Figura 2. Crescimento micelial de *Colletotrichum* spp. na presença do óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*. T1: Testemunha; T2: 50 ppm; T3: 100 ppm; T4: 500 ppm e T5: 1000 ppm.

Já o óleo *Mentha arvensis* também apresentou uma boa resposta ao crescimento micelial, mas observamos que teve uma variação no controle, na concentração de 100 ppm, sendo que o crescimento aumentou, mas em 500 ppm começou a diminuir novamente (Gráfico 1).

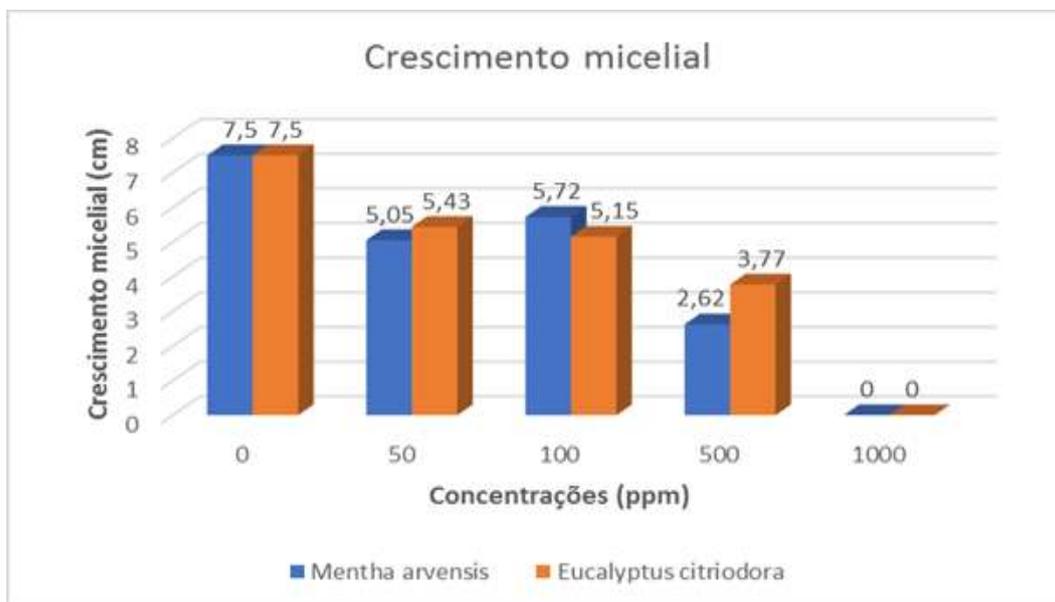


Gráfico 1. Representação do crescimento micelial do fungo *Colletotrichum* spp. na presença de dois óleos essenciais em diferentes concentrações.

Em frutos de mamão o controle do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* ocorreu com o uso dos óleos essenciais de *Mentha arvensis* e *Eucalyptus citriodora*, sendo uma excelente opção para controle em lavoura orgânica ou cultivo convencional, dessa forma vindo a reduzir a aplicação de fungicidas (CARNELOSSI et al., 2009).

Com base nos resultados, foi calculada a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC). Os dados estão dispostos na Tabela 2.

Os óleos essenciais de *Mentha arvensis* e *Eucalyptus citriodora* possuem efeito fungitóxico sobre o crescimento do fungo em pós-colheira. (RAMOS, 2014). Os resultados dependem das concentrações dos óleos empregados, como já visto, ambos os óleos essenciais em 1000 ppm tiveram a inibição total do crescimento micelial do fungo.

Esses produtos possuem uma ação direta contra o patógeno pelo fato de impedir a germinação dos esporos e do crescimento micelial, mesmo sendo óleos naturais, deve-se ter o mesmo cuidado porque se trata de substâncias químicas. (MORAIS, 2009). Com a modernidade da agricultura orgânica, os óleos podem ser uma boa opção de manejos para o controle de doenças, sendo uma prática menos agressiva. (LORENZETTI et al., 2011).



Tabela 2. Porcentagem de inibição de crescimento micelial do fungo *Colletotrichum* spp. na presença de dois óleos essenciais em diferentes concentrações. Letras maiúsculas na vertical e minúsculas na horizontal não diferem entre significativamente no teste de Tukey a 5%.

Porcentagem de inibição de crescimento micelial (PIC)		
Concentração (ppm)	<i>Mentha arvensis</i>	<i>Eucalyptus citriodora</i>
50	32,67 cA	27,56 cA
100	23,78 cA	31,33 cA
500	65,11 bB	49,78 bA
1000	100 aA	100 aA

Conforme observado os óleos essenciais de *Mentha arvensis* e *Eucalyptus citriodora*, apresentaram melhores inibições de crescimento micelial do fungo nas concentrações de 500 e 1000 ppm. O óleo de *Mentha arvensis* inibiu 65,11% e 100% e o de *Eucalyptus citriodora* 49,78% e 100% respectivamente, sendo representados no Gráfico 2.

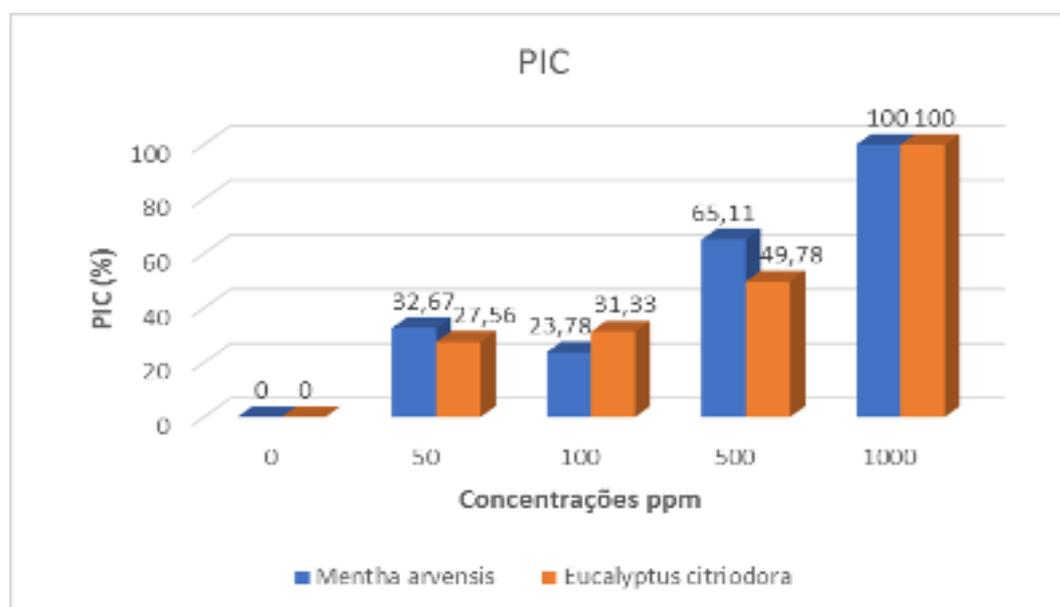


Gráfico 2. Representação da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) do fungo *Colletotrichum* spp. na presença de dois óleos essenciais em diferentes concentrações.



Conclusões

Pode-se concluir com este trabalho que os óleos essenciais de *Mentha arvensis* e *Eucalyptus citriodora* possuem efeito fungitóxico sobre *Colletotrichum* spp., sugerindo a realização de testes posteriores *in vivo*, pelo fato de os vegetais possuírem diversas moléculas que podem ser estudadas, atuando no controle dos fungos fitopatogênicos e reduzindo o uso de fungicidas químicos.

Referências bibliográficas

ALFENAS, A.C.; FERREIRA, F.A.; MAFIA, R.G.; GONÇALVES, R.C. **Isolamento de Fungos fitopatogênicos**. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. (Eds) Métodos em Fitopatologia. Viçosa, MG: UFV, p 53-90, 2007.

BONALDO S.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; TESSMANN D.J.; SCAPIM, C.A. **Fungitoxicidade, Atividade Elicitora de Fitoalexinas e Proteção de Pepino contra Colletotrichum lagenarium, pelo Extrato Aquoso de Eucalyptus citriodora**. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/%0D/fb/v29n2/19554.pdf>. Acesso em: 7 nov. 2018.

CARNELOSSI, P.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S.; ITAKO, A.T.; MESQUINI, R.M. **Óleos essenciais no controle pós-colheita de Colletotrichum gloeosporioides em mamão**. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v11n4/a07v11n4.pdf>. Acesso em: 7 nov. 2018.

ECYCLE. **Conheça os benefícios da maçã**. Disponível em: <https://www.ecycle.com.br/2967-beneficios-da-maca>. Acesso em: 5 out. 2018.

FERRARI, J.T.; DOMINGUES, R.J.; TÖFOLI, J.G.; NOGUEIRA, E.M.C. **Antracnose associada às fruteiras** (2011). Artigo em Hypertexto. Disponível em: http://www.infobibos.com/Artigos/2011_4/antracnose/index.htm. Acesso em: 10 out. 2018.

TOZZE JUNIOR, H. J.; MELLO, M. B. A.; MASSOLA JUNIOR, N. S. Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanáceas. **Summa phytopathol.**, Botucatu, v. 32, n. 1, p. 71-79, Mar. 2006.

LORENZETTI, E.R.; MONTEIRO, F.P.; SOUZA, P.E.; SOUZA, R.J.; SCALICE, H.K.; DIOGO J.R. R.; PIRES, M.S.O. **Bioatividade de óleos essenciais no controle de Botrytis cinerea isolado de morangueiro**. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v13nspe/a19v13nspe.pdf>. Acesso em: 7 nov. 2018.



MORAIS, L.A.S. **Óleos essenciais no controle fitossanitário**. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/580600/1/2009CL08.pdf>. Acesso em: 7 nov. 2018.

POMIFRUTAS. **Ciclo da maçã**. Disponível em: <http://www.pomifrutas.com.br/processo-de-producao/>. Acesso em: 5 out. 2018.

RAMOS, K. **Óleos essenciais no controle de Colletotrichum gloeosporioides**. Disponível em: <http://universidadebrasil.edu.br/portal/wp-content/uploads/2016/11/%C3%93leos-essenciais-no-controle-de-Colletotrichum-gloeosporioides.pdf>. Acesso em: 5 out. 2018.

SEBRAE NACIONAL - 26/02/2018. **O cultivo e o mercado da maçã**. Disponível em: <http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-cultivo-e-o-mercado-da-maca,ea7a9e665b182410VgnVCM100000b272010aRCRD>. Acesso em: 10 out. 2018.

SILVA, D.M.; BASTOS, C.N. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de Piper sobre Crinipellis pernicioso, Phytophthora palmivora e Phytophthora capsici. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, n.2, p. 26-8, 2007.

SILVA, M.B.; NICOLI, A.; COSTA, A.S.V.; BRASILEIRO, B.G.; JAMAL, C.M.; SILVA, C.A.; PAULA JÚNIOR, T.J.; TEIXEIRA, H. Ação antimicrobiana de extratos de plantas medicinais sobre espécies fitopatogênicas de fungos do gênero Colletotrichum. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.10, n.3, p.57-60, 2008.

SOUSA, R.M.S.; SERRA, I.M.R.S.; MELO, T.A. **Efeito de óleos essenciais como alternativa no controle de Colletotrichum gloeosporioides, em pimenta**. Revista Summa Phytopathologica, Botucatu, v, 38, n. 1, p. 42-47, 2012.