



**Ação in vitro do óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius*) sobre o crescimento micelial de *Mycosphaerella fijiensis* M., agente causal da Sigatoka Negra da bananeira**

*In vitro action of pink pepper (*Schinus terebinthifolius*) essential oil on the mycelial growth of *Mycosphaerella fijiensis* M., causal agent of Black Sigatoka of the banana plant*

SOUZA, Carlos Eduardo G.<sup>1</sup>; MELLO, Ana Paula O.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos, cadugs@gmail.com; <sup>2</sup> Universidade Federal de São Carlos, apamello@ufscar.br

**RESUMO EXPANDIDO**

**Eixo Temático: Manejo de Agroecossistemas**

**Resumo:** A bananicultura é uma atividade de extrema importância socioeconômica e cultural atrelada à agricultura familiar e consequentemente às questões da permanência do homem no campo. Os cultivos de base ecológica visam obter métodos eficientes e seguros à saúde do homem e do meio ambiente. Nesse sentido, o presente trabalho teve o objetivo de avaliar o efeito do óleo essencial de pimenta-rosa (*Schinus terebinthifolius*) no crescimento micelial de *Mycosphaerella fijiensis* M., agente causal da Sigatoka negra. A partir de folhas sintomáticas, os fungos foram isolados em placa de Petri nos tratamentos: T1 – Controle: disco de micélio em meio de cultura BDA; T2: Diluição do óleo (500 µL) em meio BDA antes da solidificação; T3: espalhamento superficial do óleo (500 µL) após solidificação; T4: Papel filtro embebido em óleo (500 µL) na tampa da placa de petri. Os resultados indicam que o óleo essencial de pimenta-rosa tem efeito direto no crescimento micelial desse fungo.

**Palavras-chave:** Cultivo ecológico, controle alternativo, fungo fitopatogênico, agricultura familiar, homem no campo.

**Introdução**

A banana é a quarta cultura alimentar economicamente mais importante depois do arroz, trigo e milho. Seu cultivo ocorre em mais de 120 países e tem a Índia como o maior produtor e o Equador como maior exportador (CHURCHILL, 2011). No Brasil, a bananicultura produz em torno de 8% do total mundial, ainda assim, apenas 1% é destinado à exportação (LICHTENBERG e LICHTENBERG, 2011).

A bananicultura é uma atividade de grande importância social e econômica no agronegócio brasileiro, e sua presença se dá principalmente pela agricultura familiar, embora haja atualmente uma crescente inserção de pequenos, médios e grandes empresários na cadeia produtiva desta cultura. (FORTES et al, 2016.]). Há, em seu cenário agrônomo, inúmeros entraves que dificultam o sucesso de sua produção entre os agricultores familiares, principalmente devido à fatores abióticos como a chuva, que propicia a proliferação de diversos patógenos, aumentando o uso de



defensivos agrícolas e consequentemente seu custo de produção (“Boletim Hortigranjeiro Abril 2023 - Conab”, 2023).

Dentre os agentes patogênicos da banana (*Musa spp.*), a Sigatoka Negra causada pelo fungo *Mycosphaerella fijiensis* (anamorfo *Pseudocercospora fijiensis*) é o mais destrutivo do “complexo de doença da Sigatoka”. No entanto, sua ação não mata as plantas imediatamente, mas as enfraquece devido à redução de sua capacidade fotossintética causando redução na quantidade e qualidade dos frutos (CHURCHILL, 2011).

Neste sentido, o enfoque agroecológico propõe alternativas ao modelo mecanicista e reducionista que foi adotado a partir da década de 1950, empregando grandes quantidades de agroquímicos. Conforme citado por Ramos (2001), a deriva quando da aplicação de um agrotóxico está diretamente relacionada à contaminação do aplicador, do meio ambiente e de culturas vizinhas. Além de causar prejuízos ao agricultor, já que boa parte do produto aplicado não atinge o alvo desejado e reduz a eficiência da aplicação, o que onera os custos de produção (RAMOS, 2001).

Estudos desenvolvidos com extratos vegetais ou óleos essenciais, obtidos a partir de plantas têm demonstrado grande potencial no controle de fitopatógenos (CUNICO et al., 1999). Tais produtos, apresentam ações antimicrobianas e antifúngicas, e são relativamente seguros e largamente aceitos pelos consumidores (OLIVEIRA JUNIOR et al., 2013), além de diminuir os custos de produção e os impactos negativos ao meio ambiente.

A pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius*) não só é utilizada como condimento alimentar, mas traz também resultados satisfatórios referentes ao efeito de seu óleo essencial na inibição do crescimento micelial e na germinação de alguns fungos. (BASTOS; ALBUQUERQUE, 2004).

No ano de 2019, bananicultores, com mais de 60 anos de experiência na produção de bananas nanica e prata, da região de Registro/SP relataram perdas significativas de produção devido a infecção causada por *Mycosphaerella fijiensis* M., em suas plantações. Esses relatos motivaram as pesquisas nessa linha com o intuito de auxiliar os produtores no manejo da doença.

Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo investigar, a ação in vitro do óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius*) no crescimento micelial do fungo *Mycosphaerella fijiensis* M., agente causal da Sigatoka negra da Bananeira (*Musa sp.*).

## Metodologia

Para o isolamento do patógeno, foram coletados discos de folhas naturalmente infectadas por *Mycosphaerella fijiensis* M. na interface tecido doente/tecido sadio, de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup>. Esses discos foram submetidos à desinfestação superficial utilizando imersão dos discos em álcool 70%, seguido de solução de hipoclorito de



sódio (2,0-2,5% de cloro ativo) por 5-10 min., seguido de uma lavagem em água destilada autoclavada. Após a desinfestação, os discos foliares foram depositados no centro de placas de Petri contendo 20 mL de meio de cultura Batata-Dextrose-Agar (BDA) sintético. As placas de Petri contendo os discos foram mantidas em BOD a 28°C por aproximadamente 4 dias. Após esse período o fungo foi identificado e repicado para novas placas com meio BDA e cultivado por 7 dias nas mesmas condições descritas anteriormente.

A identificação do patógeno foi feita com auxílio da chave de identificação e comparação dos tipos de esporos com aqueles típicos dos fungos de interesse registrados pela literatura (MASSOLA ; KRUGNER, 2011).

Os tratamentos para o desenvolvimento do projeto utilizaram o óleo essencial comercial da empresa Terra Flor Aromaterapia, que utiliza o método de extração por destilação a vapor das sementes.

Foram feitos quatro tratamentos, sendo o primeiro (T1 – Controle), apenas o disco de micélio do fungo em placa de Petri tendo como meio de cultura BDA (Batata Dextrose Agar). No segundo tratamento (T2), diluiu-se 500 µL do óleo em meio de cultura antes da solidificação, juntamente com o disco de micélio do fungo. No terceiro tratamento (T3), houve o espalhamento superficial do óleo (500 µL) após solidificação do meio juntamente com o disco de micélio do fungo. No quarto tratamento (T4), embebeu-se um papel filtro em óleo (500 µL) e este foi colocado na tampa da placa de petri, juntamente com o disco de micélio do fungo.

Para cada tratamento foram utilizados 4 diferentes volumes do óleo essencial de pimenta rosa, a saber, 500µL, 400µL, 300 µL e 200 µL.

O plaqueamento do fungo foi feito por discos de micélio retirados do meio com ajuda de um furador foram plaqueados no centro das placas de Petri contendo BDA + os tratamentos de óleo essencial propostos, descritos anteriormente. Todo procedimento foi realizado no interior do fluxo laminar. As placas contendo as colônias foram mantidas em câmara BOD a 25°C por até 12 dias. A cada 2 dias o diâmetro da colônia foi medido, com régua.

O delineamento experimental do experimento foi realizado em blocos inteiramente casualizados contendo quatro tratamentos (concentrações do extrato aquoso) e 4 repetições (placas de Petri) cada, totalizando 16 parcelas. Cada repetição consistiu de uma placa de Petri. Os dados obtidos foram submetidos à Análise de Variância, seguido de aplicação de Teste de comparação de médias de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. A análise foi feita através do software AgroEstat (<https://www.agroestat.com.br/>)

## **Resultados e Discussão**

O resultado das medidas do diâmetro de crescimento micelial mostrou que o tratamento 3 (teste 3), diferiu do controle, em todos os testes de volumes realizados e em todas as repetições. Os melhores resultados na eficácia do óleo em conter ou



atrasar o crescimento micelial do patógeno ocorreram usando 500  $\mu\text{L}$  do óleo essencial, razão pela qual os dados apresentados referem-se apenas à esse volume (Tabela 1). Para o tratamento 2 apenas o volume de 500  $\mu\text{L}$  diferiu significativamente do controle, entretanto embora não tenha havido diferença estatística para os outros volumes, notou-se uma diminuição mais consistente de crescimento micelial, quando o óleo foi adicionado ao meio BDA antes de sua solidificação (Teste 2).

O extrato etanólico das folhas da pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius*) possui capacidade de inibição do crescimento de certas bactérias e fungos, tais como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*. O óleo essencial da planta é usado topicamente no tratamento de micoses e candidíases, sendo esta atividade atribuída à sua alta concentração de monoterpenos (LIMA et al., 2006).

Os resultados do presente trabalho corroboram os estudos de SANTOS et al. (2010) que avaliando a atividade antifúngica evidenciaram que, dependendo da concentração e do patógeno, o crescimento de fungos fitopatogênicos pode ser inibido pela ação de diluições de óleo essencial da *Schinus terebinthifolius*.

A Tabela 1, mostra o crescimento micelial de *M. fijiensis* M. ao longo dos dias de avaliação (0 a 12), evidenciando a eficácia do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* em impedir completamente o crescimento micelial do patógeno no Teste 3 e em atrasar seu crescimento nos demais tratamentos. Nota-se que o desenvolvimento do fungo ocorre rapidamente na placa controle (Teste 1), porém no Teste 2, o crescimento é bastante lento e no T4, que avalia possível efeito volátil do óleo essencial, o crescimento se inicia lento e ao final da avaliação os micélios do fungo atingiram toda a extensão da placa. Essa inibição e/ou atraso no crescimento vegetativo do fungo, tem implicações em sua esporulação e consequentemente em sua patogenicidade.

Na Tabela 1, nota-se que houve uma ação positiva do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* no atraso ou na inibição do crescimento micelial do patógeno. O contato direto do óleo essencial com o fungo *Mycosphaerella fijiensis* M. foi capaz de inibir 100% do seu crescimento micelial. Na prática isso representa um potencial valor para o emprego para a proteção da lavoura. Estudos futuros devem ser conduzidos para avaliar a capacidade de esporulação dos fungos que tiveram seu crescimento micelial reduzido.



**Tabela 1.** Diâmetro médio (cm) de colônias de *M. fijiensis* M. sob diferentes tratamentos de óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* durante o período de 12 dias. Volume - 500 µL de óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius*).

Avaliação do crescimento do diâmetro micelial de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> (em cm) na concentração de 500 µL				
Ciclo	Teste 1 (Controle)	Teste 2 (Meio)	Teste 3 (Superfície)	Teste 4 (Filtro)
3º dia	0,5	0	0	0
6º dia	3	0,1	0	1
9º dia	5	0,2	0	3
12º dia	7	0,3	0	7

**Fonte:** Os autores

Defensivos naturais podem ser classificados como de baixa toxicidade (grupo toxicológico IV), não sendo agressivo ao ser humano e à natureza, podendo ser eficientes no combate a insetos e microrganismos fitopatogênicos. Além disso, apresentam custo reduzido para aquisição e simplicidade quanto ao manejo e à aplicação (PENTEADO, 2001), abrangendo o acesso a todos os agricultores.

Sendo assim, o uso de óleo essencial pode tornar-se uma medida de manejo importante reduzindo a dependência dos agricultores por insumos externos e prejudiciais à saúde do homem e meio ambiente.

## Conclusões

O óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius*), em contato direto com o fungo *Mycosphaerella fijiensis* M. nas condições in vitro tem ação significativa na inibição de seu crescimento micelial e conseqüentemente, na esporulação do fungo.

## Referências bibliográficas

BASTOS, CLEBER N.; ALBUQUERQUE, PAULO SÉRGIO B. **Efeito do Óleo de Piper aduncum no Controle em Pós-Colheita de Colletotricum musae em banana.** [s.l.: 2004].

CHURCHILL, ALICE C. *Mycosphaerella fijiensis*, the black leaf streak pathogen of banana: progress towards understanding pathogen biology and detection, disease development, and the challenges of control. **Molecular Plant Pathology**, v. 12, n. 4, p. 307–328, 2011.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Boletim Hortigranjeiro**, Brasília, DF, v. 9, n. 4, abr. 2023, p-43.

CUNICO MIRIAM M.; MIGUEL OBDULIO G.; CARVALHO, JOSÉ LUIZ S.; PEITZ CHRISTIAN; STAMGARLIN JOSÉ RENATO; SCHWAN-ESTRADA KATIA R. F.; CRUZ MARIA EUGÊNIA S.; NOZAKI, MÁRCIA H. **Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos.** *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, n.11, p.16-21, 1999.



FORTES, CLAUDIA F.; AMORIM, EDSON P.; DOS SANTOS-SEREJO, JANAY A.; OLIVEIRA E SILVA, SEBASTIÃO **O agronegócio da banana**. Embrapa, 2016, 832p.

LICHTENBERG, LUIZ A.; LICHTENBERG, PAULO S.F. Avanços na bananicultura brasileira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, Volume Especial, E. 029-036, 2011

LIMA, JOSÉ LUCIANO S. de; FURTADO, DEMERVAL A.; PEREIRA, JÓGERSON P.G.; BARACUHY, JOSÉ GERALDO V.; XAVIER, HAROUDO S. **Plantas medicinais de uso comum no Nordeste do Brasil**. Campina Grande: UFCG, 2006. 81p.

MASSOLA JUNIOR; NELSON SIDNEI; KRUGNER, LÉO T. **Fungos fitopatogênicos**. In: Manual de fitopatologia: princípios e conceitos, 2011.

OLIVEIRA JUNIOR, LUIZ FERNANDO G.; SANTOS, RITA B.; REIS, FABRÍCIO O., MATSUMOTO, SILVIA T.; BISPO, WILKA M. S.; MACHADO, LUCIANA P.; OLIVEIRA, LUCIANA F. M. **Efeito fungitóxico do óleo essencial de aroeira da praia (*Schinus terebinthifolius* RADDI) sobre *Colletotrichum gloeosporioides***. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v. 15, n. 1, p. 150–157, 2013.

PENTEADO, ROBERTO S. **A Utilização dos Defensivos Alternativos na Agricultura: Histórico e Perspectivas**. In: HEIN, M. (Org.). Resumos do 1º Encontro de Processos de Proteção de Plantas: controle ecológico de pragas e doenças. Botucatu: Agroecológica, 2001. p. 13-21.

RAMOS HAMILTON H. **Menos deriva Grupo Cultivar**. n. 6, p. 16–19, 2001.

SANTOS, ANDRÉ C. A. **Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul**. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 20, n. 2, p. 154–159, 2010.