

EFEITO DE ÓLEOS ESSENCIAIS EM FUNGOS FITOPATOGÊNICOS À CULTURA DA SOJA

Clinton Júnior Garcia Quintão ¹; Luiz Carlos da Silva Soares ²; Natália Risso Fonseca ³

1 Clinton Júnior Garcia Quintão, Bolsista IFMG, Agronomia, IFMG campus São João Evangelista, São João Evangelista - MG; clintonquintao@hotmail.com

2 Luiz Carlos da Silva Soares, Engenharia Florestal, IFMG campus São João Evangelista, São João Evangelista - MG

3 Natália Risso Fonseca, Orientadora: Pesquisadora do IFMG, campus São João Evangelista; natalia.fonseca@ifmg.edu.br

RESUMO

A soja é uma commodity de grande importância para a alimentação humana e animal e as perdas na produção causados pela infecção por fungos fitopatogênicos como *Colletotrichum truncatum* e *Sclerotinia sclerotiorum* podem ser totais em condições favoráveis aos patógenos. A dificuldade no manejo desses fungos fitopatogênicos associado a necessidade de uso constante de fungicidas nas lavouras tem incentivado a realização de novas pesquisas na busca por medidas de manejo que sejam de baixo custo e menos danosas ao meio ambiente e à saúde humana. Os compostos antimicrobianos presentes nos óleos essenciais de algumas plantas tem sido alvo de estudos e tem gerado bons resultados em relação ao seu potencial de uso no controle de fitopatogênicos. Nesse estudo, foi analisada a inibição do crescimento micelial *in vitro* dos fungos *S. sclerotiorum* e *C. truncatum* na presença dos óleos essenciais de copaíba (*Copaifera officinalis*), melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) e capim limão (*Cymbopogon flexuosus*). Os óleos essenciais foram diluídos em DMSO, na proporção 1:1 e, em seguida, foram misturados, individualmente, ao meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) e vertidos em placas de Petri. No centro de cada placa foi adicionado um disco de micélio do fungo fitopatogênico analisado. Os óleos essenciais tiveram bom desempenho na inibição do crescimento micelial dos fungos, com destaque para o óleo essencial de capim limão que inibiu 100% o crescimento de ambos os fungos.

INTRODUÇÃO:

A soja é uma cultura muito cultivada em todo mundo devido sua vantajosa composição química (GONDIN, 2019). Porém, a soja é hospedeira de vários fungos fitopatogênicos, como o *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary 1884e o *Colletotrichum truncatum* (Andrus & W.D. Moore) (GOULART, 2005).

A doença mofo branco, causado pelo fungo *S. sclerotiorum*, é encontrado em quase todas as regiões produtoras de soja do mundo (GÖRGEN, 2009). Essa doença acomete a cultura com alta agressividade, sendo o controle feito por meio de produtos químicos, devido à falta de variedades resistentes disponíveis (MULLER et al., 2002; WENDLAND et al., 2018).

A antracnose, causando por *C. truncatum*, também é uma doença que causa danos expressivos à cultura da soja (MEYER; KLEPKER, 2007). O controle desta doença é baseado em medidas que reduzem a incidência do patógeno na área de plantio, além da aplicação de fungicidas protetores (MEYER; KLEPKER, 2007).

A demanda por agrotóxicos para uso nas lavouras é uma prática comum no manejo de doenças, o que gera preocupação quanto aos seus efeitos a longo prazo (BRASIL, 2002). Dessa forma, é necessário que formas de controle alternativo sejam avaliadas.

Óleos essenciais de diversas plantas têm sido alvo de estudos como potencialmente eficazes no controle de fitopatogênicos devido a presença de substâncias antimicrobianas. O óleo de copaíba (*Copaifera* spp.) foi avaliado por Mondego et al. (2014), sendo considerado eficaz no controle dos fungos *Aspergillus* sp., *Chaetomium* sp. e *Curvularia* sp. em sementes de *Piper marginatum* na concentração de 1%.

O óleo essencial de melaleuca (*M. alternifolia*) também apresentou bons resultados contra os fungos fitopatogênicos *S. sclerotiorum* e *Alternaria alternata* (MARTINS et al., 2010). Já Andrade & Vieira (2016) verificaram que o óleo essencial de capim limão (*C. flexuosus*) possui grande potencial de inibição do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* tanto em experimentos *in vitro* quanto *in vivo*.

METODOLOGIA:

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – *campus* São João Evangelista (IFMG – SJE), localizado na cidade de São João Evangelista, Minas Gerais.

Para a realização deste trabalho foram utilizados isolados fúngicos de *S. sclerotiorum* e *C. truncatum*, obtidos a partir de plantas de soja sintomáticas. Após isolados os fungos foram cultivados em placas de Petri contendo meio de cultura comercial batata-dextrose-ágar (BDA) e mantidos em incubadora do tipo B.O.D. com temperatura controlada de $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

Foram investigado o efeito dos óleos essenciais de copaíba (T1), capim limão (T2) e melaleuca (T3) diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) na proporção 1:1, os quais foram obtidos em lojas especializadas. A escolha dos óleos foi realizada devido ao potencial efeito antifúngico dos compostos. Adicionalmente, foram avaliados os efeitos dos fungicidas Cercobin 700 WP®, nos ensaios com *S. sclerotiorum*, e do fungicida Orthocide 500®, nos ensaios com *C. truncatum*, compondo o tratamento 4 (T4). O diluente DMSO foi utilizado como tratamento testemunha (T0), totalizando cinco tratamentos a serem testados com cada espécie fúngica fitopatogênica.

Para o teste de sensibilidade aos compostos antimicrobianos, adaptou-se a metodologia descrita por Martins et al. (2010). Para cada tratamento foram utilizadas cinco placas de Petri de 100 mm de diâmetro, cada uma contendo 8 mL do meio BDA resfriado e misturado previamente com 32 μL do óleo essencial diluído em DMSO na proporção 1:1.

No centro de cada placa foi adicionado na superfície do meio de cultura, um disco de cultura de 6 mm recoberto pelo crescimento micelial do fungo em estudo. As placas foram vedadas com filme plástico e mantidas em incubadora do tipo B.O.D. a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ para o crescimento do patógeno. Após a montagem dos ensaios, foram realizadas medições diariamente por um período de até 7 dias após a inoculação do disco de micélio.

Os ensaios com cada patógeno foram realizados de forma independente, seguindo delineamento inteiramente casualizado (DIC), com cinco tratamentos e cinco repetições. A unidade experimental foi constituída por uma placa de Petri contendo um disco de micélio. Os dados foram submetidos à análise estatística pelos testes F e Tukey, empregando o software R 3.5.2 (2018), ao nível de significância de 5% de probabilidade.

Adicionalmente, a porcentagem de inibição final de cada tratamento foi calculada por meio da fórmula adaptada de Edington et al. (1971): $I (\%) = [(CFC - CFT) / CFC] \times 100$, em que I = porcentagem de inibição; CFC = crescimento do fungo no tratamento testemunha; CFT = crescimento do fungo no tratamento.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

A análise das médias de crescimento do fungo *S. sclerotiorum* ao final das medições aponta que todos os tratamentos diferiram estatisticamente entre si, sendo que o tratamento testemunha apresentou maior diâmetro de crescimento micelial ao final de 5 dias, preenchendo quase que completamente todo o meio de cultura da placa (Tabela 1).

O óleo de capim limão (T2) apresentou o melhor resultado entre os tratamentos, inibindo completamente o crescimento fúngico, ao se desconsiderar o diâmetro do disco de micélio. De acordo com a fórmula de Edington et al. (2019), o óleo de melaleuca (T3) inibiu 63,27% o crescimento micelial e o óleo de copaíba (T1) inibiu 24,85% do crescimento micelial do fungo. O fungicida utilizado (T4) permitiu o crescimento de uma colônia fúngica de 4,66 cm, resultado inferior ao apresentado pelos óleos essenciais de capim-limão e melaleuca, representando uma eficiência de apenas 54,12%, ao se comparar com a testemunha

Tabela 1. Crescimento micelial médio (cm) de *S. sclerotiorum* sob efeito dos tratamentos obtido após o período de incubação de 5 dias a 25°C.

Tratamento	Crescimento micelial médio (cm)
T0 (testemunha - DMSO)	9,45 a
T1 (óleo essencial de copaíba)	7,25 b
T4 (fungicida Cercobin 700 WP®)	4,66 c
T3 (óleo essencial de melaleuca)	3,85 d
T2 (óleo essencial de capim-limão)	0,60 e

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. O diâmetro de 0,6 cm do disco de micélio é considerado nos resultados.

Em relação aos resultados obtidos com o fungo *C. truncatum*, a análise das médias de crescimento mostrou não haver diferença significativa entre o tratamento testemunha e o óleo essencial de copaíba, apresentando-se este como o óleo essencial com o menor poder de inibição de crescimento fúngico entre os testados.

Da mesma forma que para o fungo *S. sclerotiorum*, o óleo essencial de capim limão apresentou 100% de eficácia na inibição do crescimento micelial de *C. truncatum*, superando o tratamento com fungicida, o qual inibiu apenas 63,82% do crescimento, comparado a testemunha. Já o óleo essencial de melaleuca obteve uma ação muito satisfatória conseguindo inibir em até 40,82% o crescimento do fungo no meio de cultura (Tabela 2).

Tabela 2. Crescimento micelial médio (cm) de *C. truncatum* sob efeito dos tratamentos obtido após o período de incubação de 7 dias a 25°C.

Tratamento	Crescimento micelial médio (cm)
T0 (testemunha - DMSO)	4,47 a
T1 (óleo essencial de copaíba)	4,20 a
T3 (óleo essencial de melaleuca)	2,89 b
T4 (fungicida Orthocide 500®)	2,00 c
T2 (óleo essencial de capim-limão)	0,60 d

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. O diâmetro de 0,6 cm do disco de micélio é considerado nos resultados.

Esses resultados corroboram com os obtidos por Queiroz et al. (2020), os quais verificaram eficiência no controle *in vitro* dos fungos *S. sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii* ao utilizar os óleos de essenciais de citronela (*Cymbopogon nardus*) e cidreira (*Cymbopogon citratus*), pertencentes ao mesmo gênero botânico que o capim limão. Guimarães et al. (2011) também verificaram o efeito fungitóxico do óleo essencial de capim limão no crescimento *in vitro* dos fitopatógenos *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Bipolaris* sp. e *Alternaria alternata*.

O efeito fungistático dos óleos essenciais encontradas neste experimento pode ser atribuído à ação das substâncias presentes na composição dos óleos como os compostos fenólicos, monoterpenos e terpenóides como relata Gilles et al. (2010).

A ação destes compostos presentes nos óleos sobre os fungos pode estar relacionada a sua característica lipofílica, em que a hidrofobicidade do óleo essencial facilitaria sua interação com a lipoproteína da membrana citoplasmática das hifas, interferindo na sua permeabilidade e causando alterações nas estruturas do fungo (COSTA et al. 2011; BAKKALI et al. 2008). Essas alterações poderiam resultar no extravasamento do citoplasma, esvaziamento e murchamento das hifas, afetando seu desenvolvimento e, conseqüente, infecção (ZAMBONELLI et al, 1996; CACCIONI & GUIZZARDI, 1994; DOS SANTOS et al. 2013; MAIA et al, 2015).

CONCLUSÕES:

O óleo essencial de capim-limão se mostrou altamente eficaz no controle *in vitro* dos fungos e *C. truncatum*, com inibição de 100% do crescimento micelial. Já o óleo essencial de melaleuca apresentou resultados satisfatórios no controle do crescimento dos fungos, com melhor desempenho no controle de *S. sclerotiorum*.

Os resultados encontrados neste estudo possibilitam a elaboração de novos trabalhos com o intuito de avaliar e potencializar o uso destes óleos essenciais no manejo do mofo branco e da antracnose em campo, podendo ser futuramente adotado como uma nova medida de controle no manejo dessas importantes doenças da cultura da soja.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ANDRADE, W. P.; VIEIRA, G. H. C; Efeito dos óleos essenciais sobre a antracnose in vitro e em frutos de mamoeiro. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.18, n.1, supl. I, p.367-372, 2016.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. **Agrotóxicos**, 2002.

COSTA, L. C.B et al. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim-limão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.4, p.956-959, out-dez 2005.

EDINGTON, L. V.; KHEW, K. L.; BARRON, G.L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 61, n. 1, p. 42-4, 1971.

GILLES, M.; ZHAO, J.; AN, M.; AGBOOLA, S. Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian Eucalyptus species. **Food Chemistry**. v.119, p.731-737, 2010.

GULART, A.C.P. Fungos em sementes de soja detecção, importância e controle. **Embrapa Agropecuária**. Oeste. p.1-72, 2005.

GUIMARÃES, L, G, L et al. Antioxidant and fungitoxic activities of the lemongrass essential oil and citra. **Rev. Ciênc. Agron.**, v. 42, n. 2, p. 464-472, abr-jun, 2011.

GONDIN, P.H.R. Industrialização da Soja no Brasil. p.1-23, 2019.

GÖRGEN, C. A et al. Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 1583-1590, 2009.

MARTINS, J.A.S; SAGATA, E ; SANTOS, V.E; JULIATTI, F.C; Evaluation of the effect of melaleuca alternifolia oil on mycelial growth of phytopathogenic fungi in vitro. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 27, n. 1, p. 49-51, Jan./Feb. 2010

MARTINO, L.; NAZZARO, F.; MANCINI, E.; DE FEO, V. Essencial Oils from Mediterranean Aromatic Plants. **The Mediterranean Diet. Academic Press**. 58, p. 649-661, 2015.

MEYER, M.C; KLEPKER, D. Manejo da antracnose em soja, **Embrapa soja**. Balsas-MA 2007. Disponível em: Manejo-da-antracnose-em-soja.pdf (embrapa.br).

MONDEGO, J. M et al. Controle alternativo da microflora de sementes de pseudobombax marginatum com óleo essencial de copaíba (copaifera sp.) **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 30, n. 2, p. 349-355, Mar./Apr. 2014

MUELLER, D. S.; HARTMAN, G. L.; PEDERSEN, W. L. Development of sclerotia and apothecia of *Sclerotinia sclerotiorum* from infected soybean seed and its control by fungicide seed treatment. **Plant Disease**. Saint Paul. Vol. 83:1113-1115. 1999.

MUELLER, D.S et al. Efficacy of fungicides on *Sclerotinia sclerotiorum* and their potential control of *Sclerotinia* stem rot on soybean. **Plant Disease**. Saint Paul. Vol. 86:26-31. 2002

QUEIROZ, T. N et al. Extratos e óleos essenciais como alternativa no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii* isolados de soja (*Glycine max* L.). **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 13, n. 2, p. 737-753, abr./jun. 2020 - e-ISSN 2176-9168.

SAATH.K. C. O; FACHINELLO. A. L. Crescimento da Demanda de Alimentos e Restrições do Fator Terra no Brasil. **Revista Economia Sociologia Rural** , Piracicaba-SP, Vol. 56, Nº 02, p. 195-212, Abr./Jun. 2016.

SILVA, L. S et al. Controle alternativo do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* com óleos essenciais. **Cadernos de Agroecologia** – ISSN 2236-7934 – Anais do VI CLAA, X CBA e V SEMDF – Vol. 13, Nº 1, Jul. 2018.

WENDLAND, A; LOBO, J. M; FARIA. J. C. Manual de Identificação das Principais Doenças do Feijoeiro-Comum. **Embrapa**. V.1, 49.p, 2018.