

NOTA CIENTÍFICA

Inibição do crescimento micelial de *Fusarium solani* f. sp. *glycines* com o uso dos óleos essenciais

Daniele Maria Nascimento¹, Gustavo Haralampidou da Costa Vieira², Adriana Zanin Kronka¹

¹ Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP, Campus de Botucatu, Botucatu, São Paulo, Brasil. E-mail: daniele_ocz@hotmail.com, adriana@fca.unesp.br

² Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – UEMS, Unidade de Cassilândia, Cassilândia, Mato Grosso do Sul, Brasil. E-mail: gcv@uems.br.

Recebido: 29/07/2016; Aceito: 06/10/2016.

RESUMO

A síndrome da morte súbita da soja, causada pelo fungo *Fusarium solani* f. sp. *glycines*, tem causado sérios problemas na cultura. Objetivou-se avaliar o efeito dos óleos essenciais de copaíba (*Copaifera langsdorfii*), nim (*Azadirachta indica*), manjeriço (*Ocimum basilicum*), menta (*Mentha piperita*) e palmarosa (*Cymbopogon martinii*) no crescimento micelial de *Fusarium solani* f. sp. *glycines*. Foram testadas quatro concentrações dos óleos essenciais, 4000, 6000, 8000 e 1000 $\mu\text{L L}^{-1}$ de meio BDA (batata-dextrose-ágar). Discos miceliais de 3,0 mm de diâmetro foram inoculados no centro das placas de Petri contendo o meio BDA com os tratamentos. O crescimento micelial foi avaliado após sete dias da incubação das placas. Com exceção dos óleos essenciais de nim e copaíba, os demais inibiram completamente o desenvolvimento micelial. Estes resultados demonstram o potencial antifúngico dos óleos essenciais no controle desta doença.

Palavras-chave: controle alternativo, síndrome da morte súbita, soja

Mycelial growth inhibition of *fusarium* sp. by basil, peppermint and pink palm essential oils

ABSTRACT

Sudden death syndrome or red root rot, caused by the fungus *Fusarium solani* f. sp. *glycines*, has caused serious problems in soybean crop. In this context, this study aimed to evaluate the effect of essential oils of copaiba (*Copaifera langsdorfii*), neem (*Azadirachta indica*), basil (*Ocimum basilicum*), mint (*Mentha piperita*) and palmarosa (*Cymbopogon martinii*) on mycelial growth of *Fusarium solani* f. sp. *glycines*. Four concentrations of different essential oils [4000, 6000, 8000 and 10000 $\mu\text{L L}^{-1}$ of PDA (potato-dextrose-agar) medium] were tested in this study. Mycelium discs of 3.0 mm diameter were inoculated in the center of Petri dishes containing PDA medium with the treatments. Mycelial growth were assessed at seven days after the establishment of the experiment. Exception the neem and copaiba essential oils, the others essential oils completely inhibited mycelial growth. These results showed the antifungal potential of these essential oils in controlling this disease.

Key words: alternative control, sudden death syndrome, soybean.

A síndrome da morte súbita ou fusariose, causada por *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. f. sp. *glycines*, tem acarretado sérios problemas à cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merr.). O fungo sobrevive no solo durante a entressafra na forma de clamidósporos, suportando grandes variações de temperatura e, após a infecção das raízes, os primeiros sintomas visíveis se caracterizam por amarelecimento e desfolha (WESTHPHAL et al., 2008).

As estratégias de controle são escassas, pois embora as práticas culturais reduzam os danos, elas não previnem a doença, e não há produtos químicos registrados para o controle dessa doença (WESTHPHAL et al., 2008). Além do mais, tem se discutido os impactos dos agrotóxicos no ambiente, saúde humana e na resistência adquirida pelos patógenos a seus grupos químicos, de modo a minimizar seu uso e promover uma agricultura mais sustentável (LAMICHHANE et al., 2016).

O manejo de doenças em plantas requer uma alternativa ao uso excessivo de produtos químicos. Os óleos essenciais são substâncias naturais e, portanto, não agredem o ambiente e a saúde humana, sendo uma alternativa em substituição aos químicos, com casos de sucessos decorrentes de sua aplicação descritos na literatura, como no controle da ferrugem da videira e da antracnose do sorgo. (FIALHO et al., 2015; SARMENTO-BRUM et al., 2013).

Estudos preliminares *in vitro* indicam produtos oriundos de plantas medicinais com potencial no controle de fitopatógenos. Trabalhos desenvolvidos com óleos essenciais têm relatado a eficiência dos mesmos através de sua ação fungitóxica direta, inibindo o desenvolvimento do fungo. O índice de velocidade de crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* decresceu à medida que aumentaram as concentrações dos óleos essenciais de *Lippia sidoides*, *Cymbopogon citratus* e *Ocimum gratissimum* (AQUINO et al., 2014). Os óleos essenciais de “tea tree” (*Melaleuca alternifolia*), cravo (*Eugenia caryophyllata*) e palma rosa (*Cymbopogon martinii*) controlaram totalmente o desenvolvimento de colônias de *C. musae* (BARBOSA et al., 2015).

O presente trabalho objetivou verificar a atividade dos óleos essenciais de copaíba, manjerição, nim, menta e palmarosa na inibição do crescimento micelial de *F. solani* f. sp. *glycines*, agente causal da fusariose na soja.

Os óleos essenciais usados neste estudo são puros e foram obtidos comercialmente de uma empresa especializada registrada na ANVISA: CEVS 354340218-477-000401-1-8. O isolado fúngico, *F. solani* f. sp. *glycines*, foi adquirido da Coleção de Culturas Fúngicas, Micoteca "Mário Barreto Figueiredo", do Instituto Biológico de São Paulo. O fungo foi repicado para meio de cultura batata-dextrose-

ágar (BDA), e mantido em câmara climatizada a 25 °C e foto período de 12 h. As colônias puras forneceram os discos miceliais utilizados no estudo.

Foram usados os óleos essenciais de copaíba (*Copaifera langsdorfii*), nim (*Azadirachta indica*), manjerição (*Ocimum basilicum*), menta (*Mentha piperita*) e palma rosa (*Cymbopogon martinii*), em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x4, sendo os cinco óleos essenciais e quatro concentrações (4000; 6000; 8000 e 10000 $\mu\text{L L}^{-1}$), com cinco repetições, além da testemunha (controle positivo).

Os óleos essenciais foram adicionados nas devidas concentrações ao meio BDA fundente, transferindo-se um disco de meio de cultura de 3 mm de diâmetro, colonizado pelo fungo, ao centro de cada placa de Petri, que, posteriormente, foram mantidas em BOD nas mesmas condições mencionadas anteriormente. Após sete dias, quando a testemunha cobriu toda a placa, realizou-se a medição do diâmetro da colônia, considerando-se a média de duas medidas diametralmente opostas. Para obtenção dos valores reais de crescimento foram descontados os 3 mm iniciais. Com base nos resultados, foi calculada a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC), conforme Nascimento et al. (2013), sendo usada a seguinte fórmula: $\text{PIC} = (\text{diâmetro da testemunha} - \text{diâmetro do tratamento}) / (\text{diâmetro da testemunha}) \times 100$.

Os dados de crescimento micelial foram submetidos à análise de variância pelo teste F. A média de cada tratamento foi comparada à média da testemunha pelo teste de Dunnet (5%) e, para o esquema fatorial, utilizou-se o teste Tukey (5%).

Na Tabela 1 estão dispostos os dados referentes ao diâmetro de colônia e porcentagem de inibição de crescimento (PIC).

A maior inibição proporcionada pelo óleo essencial de copaíba ocorreu na concentração de 6000 $\mu\text{L L}^{-1}$, reduzindo em 61,88% o crescimento micelial, enquanto que as demais concentrações não diferiram da testemunha. Assim como neste trabalho, Sousa et al. (2012) não observaram uma correlação entre aumento de concentração desse óleo e diminuição do desenvolvimento fúngico de *C. gloeosporioides*. Os autores relataram que, neste caso, a concentração intermediária estudada de 0,60%, proporcionou menor crescimento de colônia (4,10 cm). O óleo essencial de nim apresentou um comportamento estimulante, apresentando o patógeno crescimento micelial superior em relação à testemunha, enquanto as demais concentrações não diferiram da testemunha. Sousa et al. (2012) também constataram crescimento micelial de *C. gloeosporioides* na presença desse óleo, embora não superior ao tratamento composto apenas pelo meio BDA.

Tabela 1. Diâmetro da colônia (cm) e porcentagem de inibição de crescimento (PIC %) de *Fusarium solani* f. sp. *glycines* exposto a tratamentos com óleos essenciais em diferentes concentrações. Cassilândia, MS, 2015.

Concentrações ($\mu\text{L L}^{-1}$)	Copaíba	Nim	Manjeriçã	Menta	Palmarosa
Diâmetro da colônia (cm)					
4000	2,90 a B	5,59 a A*	0,14 a C*	0,00 a C*	0,00 a C*
6000	1,09 c B*	2,08 c A	0,00 a C*	0,00 a C*	0,00 a C*
8000	2,87 a A	3,09 b A	0,00 a B*	0,00 a B*	0,00 a B*
10000	1,96 b B	2,66 b A	0,00 a C*	0,00 a C*	0,00 a C*
Testemunha = 2,86					
CV (%) = 39,26					
Porcentagem de inibição de crescimento (%)					
4000	0,00	0,00	92,10	100	100
6000	61,88	27,37	100	100	100
8000	0,00	0,00	100	100	100
1000	31,56	7,00	100	100	100

Médias de concentração seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$). Médias de óleo essencial seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$). *Médias de tratamento diferem da média da testemunha pelo teste de Dunnett ($P<0,05$).

O comportamento estimulante do nim em relação à testemunha já foi relatado por Machado et al. (2015) em estudo com *Lasiodiplodia theobromae* submetido as concentrações de 4, 8 e 16 mL L⁻¹ do óleo, mas, neste caso, a inibição do fungo ocorreu de acordo com o aumento da dose, chegando a 0,96 cm na presença de 64 mL L⁻¹. Esses mesmos autores investigaram ainda o efeito desta substância sobre *C. gloeosporioides*, e verificaram aumento da inibição com aumento da concentração, o que não foi constatado no presente trabalho.

A partir da concentração de 4000 $\mu\text{L L}^{-1}$, os óleos essenciais de manjeriçã, menta e palma rosa inibiram o desenvolvimento do fungo, não diferindo entre si, porém diferindo da testemunha (Tabela 1). Resultados similares foram verificados por Amini et al. (2016) em estudo com o óleo essencial de manjeriçã e três espécies de *Phytophthora*, obtendo-se índice de inibição próximo à 100% quando utilizada a concentração de 400 ppm do óleo.

Barbosa et al. (2015) investigaram concentrações menores do óleo essencial de palma rosa, obtendo 100% de inibição do crescimento micelial de *C. musae* a partir de 25 $\mu\text{L L}^{-1}$, enquanto que Regnier et al. (2014) empregando 500 $\mu\text{L L}^{-1}$ desse óleo, relataram 76,4% de inibição de *Geotrichum citri-aurantii*. Como demonstrado no presente estudo, 4.000 $\mu\text{L L}^{-1}$ já são suficientes para inibir o desenvolvimento de *F. solani*. Essas divergências quanto às concentrações necessárias para inibição de diferentes patógenos indicam que ajustes devem ser realizados com o intuito de se obter uma concentração inibitória mínima para cada fungo em particular.

Como citado anteriormente, a concentração de 4000 $\mu\text{L L}^{-1}$ do óleo essencial de hortelã inibiu completamente o patógeno em estudo. Para inibição de

Lecanicillium fungicola var. *fungicola* e *Agaricus bisporus* a concentração inibitória mínima desse óleo essencial é de 1000 e 750 $\mu\text{L L}^{-1}$ (MEHRPARVAR et al., 2016). Diante do exposto, recomenda-se estudos posteriores a fim de elucidar seu comportamento sobre o patossistema, para que possam ser empregados no manejo da fusariose da soja.

Os óleos essenciais de manjeriçã, menta e palmarosa apresentam ação fungicida “in vitro” sobre *Fusarium solani* f. sp. *glycines* a partir da concentração de 4000 $\mu\text{L L}^{-1}$.

Referências Bibliográficas

- AMINI, J.; FARHANG, V.; JAVADI, T.; NAZEMI, J. Antifungal effect of plant essential oils on controlling *Phytophthora* species. **The Plant Pathology Journal**, Seoul, v. 32, n. 1, p. 16-24, 2016.
- AQUINO, C. F.; SALES, N. L. P.; SOARES, E. P. S.; MARTINS, E. R.; COSTA, C. A. Composição química e atividade *in vitro* de três óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* do maracujazeiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu-SP, v. 16, n. 2, supl. 1, p. 329-336, 2014.
- BARBOSA, M. S.; VIEIRA, G. H. C.; TEIXEIRA, A. V. Atividade biológica *in vitro* de própolis e óleos essenciais sobre o fungo *Colletotrichum musae* isolado de bananeira (*Musa* spp.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu-SP, v. 17, n. 2, p. 254-261, 2015.
- FIALHO, R. O.; PAPA, M. F. S.; PEREIRA, D. A. S. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Phakopsora euviitis*, agente causal da ferrugem da videira. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo-SP, v. 82, n. 1, p. 1-7, 2015.
- LAMICHHANE, J. R.; DACHBRODT-SAAAYDEH, S.; KUDSK, P.; MESSÉAN, A. Toward a reduced reliance on conventional pesticides in European agriculture. **Plant Disease**, St. Paul, v. 100, n. 1, p. 10-24, 2016.

MACHADO, P. P.; VIEIRA, G. H. C.; MACHADO, R. A. Uso da própolis e óleo de nim no controle dos fungos *Lasiodiplodia theobromae* e *Colletotrichum gloeosporioides*: principais patógenos que acometem os frutos da manga. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 2, n. 4, p.31-37, 2015.

MEHRPARVAR, M.; GOLTAPEH, E. M.; SAFAIE, N.; ASHKANI, S.; HEDESH, R. M. Antifungal activity of essential oils against mycelial growth of *Lecanicillium fungicola* var. *fungicola* and *Agaricus bisporus*. **Industrial Crops and Products**, Leiden, v.84, n. 1, p.391-398, 2016.

NASCIMENTO, J.M.; SERRA, A.P.; BACHII, L.M.; GAVASSONI, W.L.; VIEIRA, M.C. Inibição do crescimento micelial de *Cercospora calendulae* Sacc. por extratos de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu-SP, v. 15, n. 4, p. 751-756, 2013.

REGNIER, T.; COMBRINCK, S.; VELDMAN, W.; PLOOY, W.D. Application of essential oils as multi-target fungicides for the control of *Geotrichum citri-aurantii* and other

postharvest pathogens of citrus. **Industrial Crops and Products**, Leiden, v. 61, n. 1, p.151-159, 2014.

SARMENTO-BRUM, R. B. C.; SANTOS, G. R.; CASTRO, H. G.; GONÇALVES, C. G.; CHAGAS JÚNIOR, A. F.; NASCIMENTO, I. R. Efeito de óleos essenciais de plantas medicinais sobre a antracnose do sorgo. **Bioscience Journal**, Uberlândia-MG, v. 29, n. 1, p. 1549-1557, 2013.

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. **Summa Phytopathologica**, Botucatu-SP, v. 38, n. 1, p. 42-47, 2012.

WESTPHAL, A.; ABNEY, T. S.; XING, L.; SHANER, G. Sudden death syndrome of soybean. **The Plant Health Instructor**, St. Paul, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1094/PHI-I-2008-0102-01>>. Acesso em: 17 jul. 2016.