

AValiaÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO *IN VITRO* DE ÓLEOS ESSENCIAIS E EXTRATOS VEGETAIS CONTRA *Bipolaris oryzae*

Klaus Konrad Scheuermann¹; Andrey Martinez Rebelo²; Eduardo Rodrigues Hickel³

Palavras-chave: arroz irrigado, mancha parda, controle alternativo

INTRODUÇÃO

A mancha parda, causada pelo fungo *Bipolaris oryzae*, ocorre principalmente nas folhas e panículas das plantas de arroz. Nas folhas, observam-se manchas ovaladas, de coloração marrom-avermelhada, enquanto nas panículas provoca manchas nos grãos de coloração semelhante e redução no peso de grãos, além de gessamento, que aumenta a predisposição dos grãos à quebra durante o beneficiamento (FARIAS, 2007). As sementes quando infectadas, apresentam menor porcentagem de germinação (WEBSTER & GUNNELL, 1992). Em função disso, em muitas regiões de cultivo de arroz é necessária a adoção de medidas para controle da mancha parda, as quais baseiam-se no uso de fungicidas, aplicados no período entre o emborrachamento e pleno florescimento (SOSBAL, 2010).

Grande parte dos fungicidas empregados na cultura do arroz irrigado tem o período de carência igual ou superior a trinta dias (AGROFIT, 2011), sendo que muito frequentemente a água de irrigação é liberada ou mesmo os grãos são colhidos sem obedecer este período, o que pode oferecer riscos a saúde humana e ao meio ambiente.

Compostos de origem vegetal tem se mostrado promissores no controle de fitopatógenos podendo vir a ser uma alternativa ao uso de fungicidas sintéticos. Óleos essenciais e extratos de espécies como a melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), eucalipto (*Eucalyptus citriodora*), confrei (*Symphytum officinale*) e aroeira (*Schinus terebinthifolius*) tem apresentado efeito inibitório *in vitro* a um grande número de espécies fúngicas e até mesmo bacterianas (CONCHA et al., 1998; GONÇALVES et al., 2005). O extrato de folhas de confrei além de inibir a germinação de conídios de *Oidium monilioides*, mostrou diminuir também a incidência de oídio em plantas de trigo (KARAVAEV et al., 2001). Bonaldo et al. (2004) demonstraram que o extrato aquoso de eucalipto não só inibe totalmente a germinação de esporos de *Colletotrichum lagenarium*, como também induz a resistência de pepineiro contra este patógeno. Apesar de existirem muitos trabalhos descrevendo a atividade antimicrobiana de compostos derivados das espécies vegetais supracitadas, pouco é conhecido acerca do seu efeito sobre *B. oryzae*. Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito inibitório *in vitro* de óleos e extratos vegetais extraídos destas espécies, sobre o fungo *B. oryzae*, a fim de identificar compostos promissores para o controle da mancha parda do arroz.

MATERIAL E MÉTODOS

Folhas de eucalipto, melaleuca, aroeira e confrei foram coletadas nos cultivos experimentais da Estação Experimental da Epagri em Itajaí, SC, entre nove e 11h. Após a desidratação em local sombreado, por 24 horas, amostras de 250g de cada material foram retiradas para o processamento. Os óleos foram extraídos por arraste a vapor de água (hidrodestilação), em balão volumétrico sobre manta aquecida, conectado a um "clevenger" e a um condensador para resfriamento do vapor e posterior separação do óleo e do

¹ Eng. Agr. Dr. Pesquisador da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão de Santa Catarina - Epagri. Rodovia Antônio Heil 6800, CP 277, Itajaí -SC. CEP: 88318-112. e-mail: klaus@epagri.sc.gov.br

² Farm. Ind. M.Sc. Pesquisador da Epagri – Estação Experimental de Itajaí. andrey@epagri.sc.gov.br

³ Eng. Agr. Dr. Pesquisador da Epagri – Estação Experimental de Itajaí. hickel@epagri.sc.gov.br

hidrolato.

Os extratos foram obtidos por maceração em solução hidroalcoólica de folhas trituradas, previamente secas em estufa de ar forçado a 50°C. A maceração foi feita em um funil de separação, por 7 dias, em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Em seguida o extrato foi filtrado e concentrado em evaporador rotativo a 50°C e filtrado. Os óleos, hidrolatos e extrato fluido foram então armazenados em frascos âmbar e conservados a -18°C.

Para os testes de inibição *in vitro*, estes compostos foram diluídos em meio de cultura BDA fundente para uma concentração final de 0,6%, sendo que os óleos essenciais foram previamente emulsificados com monoleato de sorbitano polioxiétileno (Tween 80 PS) na proporção de 1:1 (v/v). Foi utilizado 20mL de meio de cultura para cada placa de Petri (com diâmetro de 100mm). Em cada placa de Petri repicou-se um disco de micélio de 5mm de diâmetro, proveniente de colônias de *Bipolaris oryzae* cultivadas em meio BDA. As avaliações consistiram da medição do diâmetro das colônias em dias alternados, realizadas a partir do segundo até o décimo quinto dia, período em que as placas foram mantidas em estufa BOD a 28°C com fotoperíodo de 12h.

Para avaliar o efeito de dose, os óleos essenciais foram testados nas concentrações de 0,075, 0,15, 0,3, 0,6 e 1,2%, os quais foram emulsificados e diluídos tal como descrito anteriormente, assim como as condições de crescimento que também foram as mesmas. As avaliações foram realizadas aos 5, 10 e 15 dias após a repicagem. Em ambos os experimentos o tratamento testemunha foi BDA contendo Tween 80 na concentração de 1,2%, sendo estes experimentos realizados com cinco repetições em delineamento inteiramente casualizado. Os dados obtidos foram submetidos a análise de regressão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos óleos essenciais de eucalipto, melalêuca e aroeira e seus respectivos hidrolatos, enquanto que a partir de confrei obteve-se apenas o extrato fluido. Nos testes de inibição *in vitro* em que todos estes compostos foram testados na concentração de 0,6%, observou-se que somente os tratamentos com óleo essencial de eucalipto e melalêuca foram promissores.

A avaliação de doses dos óleos essenciais de eucalipto e melalêuca demonstrou que para ambos os óleos houve alguma inibição do crescimento micelial do fungo a partir da concentração de 0,3%, com completa inibição a 1,2% (Figura 1). Terzi et al. (2007) demonstraram que o óleo essencial de melalêuca apresenta atividade antimicótica de amplo espectro, inibindo o crescimento micelial em doses a partir de 0,25%. O mesmo foi observado para óleo essencial de *E. citriodora*, que apresenta alguma atividade inibitória a *Colletotrichum acutatum* partir de 0,25% (DIAS-ARIEIRA, 2010), sugerindo que ambos os óleos são equivalentes em relação a concentração de inibição para as espécies fúngicas testadas.

A avaliação do crescimento micelial de *B. oryzae* ao longo dos dias, revelou que até os dez dias após a repicagem do fungo, houve uma completa ou quase completa inibição do crescimento micelial de *B. oryzae* pelos óleos de melalêuca e eucalipto respectivamente na concentração de 0,6%. A partir deste período, observou-se haver um início de crescimento micelial do fungo, demonstrando que os óleos tiveram efeito fungistático e não fungicida. Isto sugere também estar havendo algum tipo de degradação dos ingredientes ativos ou mesmo sua volatilização ao longo do período de avaliação.

A não inibição do crescimento micelial de *B. oryzae* pelos demais tratamentos testados pode significar que estes não tem efeito sobre *B. oryzae* ou que sejam necessárias concentrações mais elevadas para que ocorra a inibição. No caso de extratos, é sabido que seus constituintes estão presentes em baixa concentração. Em *E. citriodora*, por exemplo, cujos óleos tem conhecida atividade antimicrobiana em baixa concentração, seu extrato

aquoso é eficaz contra *Colletotrichum lagenarium* somente em concentrações a partir de 15% (BONALDO et al., 2004), o que sugere que pelo menos para o extrato de confei seja necessário a avaliação de concentrações mais elevadas.

As etapas subsequentes deste trabalho são as avaliações dos principais constituintes dos óleos individualmente, a fim de identificar aqueles que são responsáveis pelo efeito inibidor observado e avaliação dos óleos em condições de campo.

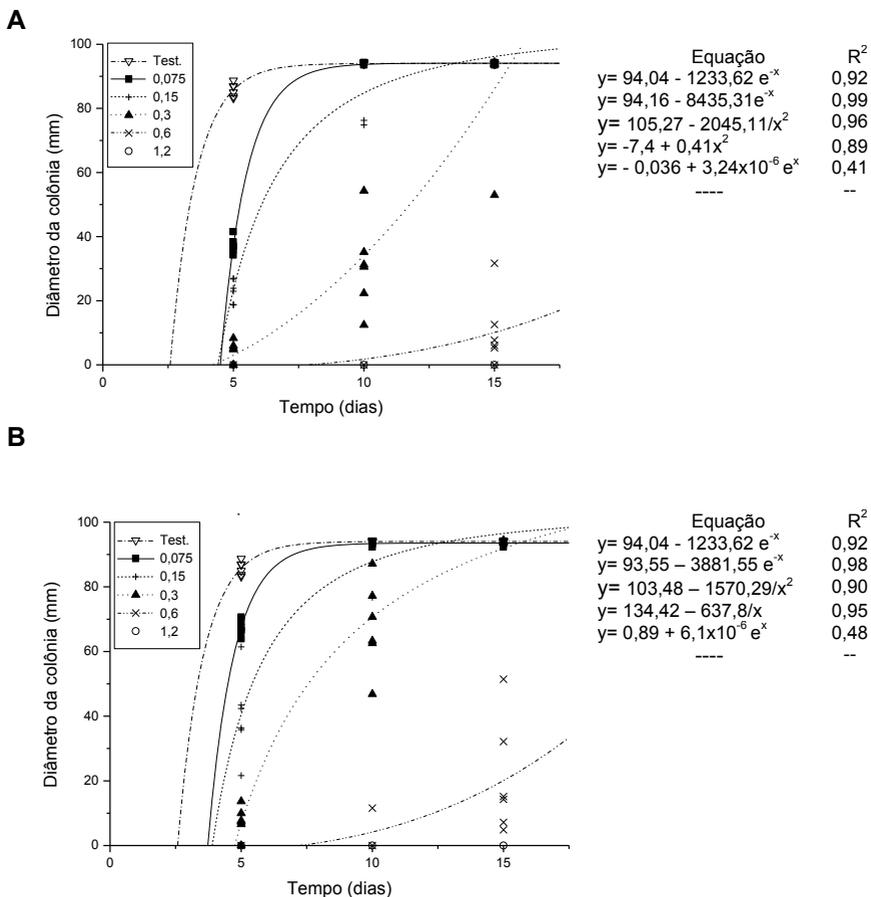


Figura 1- Inibição do crescimento micelial de *Bipolaris oryzae* pelo emprego de doses crescentes de óleo essencial de melaleuca (A) e de eucalipto (B). As doses utilizadas variaram de 0,075 a 1,2%. Como testemunha foi utilizado Tween 80 na concentração de 1,2%. As equações estão dispostas na mesma ordem dos tratamentos apresentados na legenda.

CONCLUSÃO

Óleos essenciais de *Melaleuca alternifolia* e *Eucalyptus citriodora* inibem o crescimento micelial de *Bipolaris oryzae*.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a FAPESC pelo apoio financeiro, o que tornou possível a execução deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGROFIT. <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit>. Acesso 17/03/2011.
- BONALDO, S.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R. et al. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Tropical Plant Pathology**, v.29, p.128-134, 2004.
- CONCHA, J.M.; MOORE, L.S.; HOLLOWAY, W.J. Antifungal activity of *Melaleuca alternifolia* (tea-tree) oil against various pathogenic organisms. **Journal of the American Podiatric Medical Association**, v.88, p.489-492, 1998.
- DIAS-ARIEIRA, C.R.; FERREIRA, L.R.; ARIEIRA, J.O. et al. Atividade do óleo de *Eucalyptus citriodora* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum acutatum* em morangueiro. **Summa Phytopathologica**, v.36, p.228-232, 2010.
- FARIAS, C.R.J. **Espécies de Bipolaris associadas à helmintosporiose do arroz (*Oryza sativa* L.) no sul do Brasil**. 2007. 104p. (Tese de Doutorado) Universidade Federal de Pelotas - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Pelotas.
- GONÇALVES, A.L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.72, p.353-358, 2005.
- KARAVAEV, V.A.; SOLNTSEV, M.K.; YURINA, T.P. et al. Antifungal activity of aqueous extracts of the leaves of cowparsnip and comfrey. **Biology Bulletin of the Russian Academy of Sciences**, v.28, p.365-370, 2001.
- SOSBAI. **Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o sul do Brasil**. XXVIII Reunião Técnica da Cultura do Arroz Irrigado. Bento Gonçalves: SOSBAI, 2010.188p.
- TERZI, V.; MORCIA, C.; FACCIOLI, P.; et al. *In Vitro* antifungal activity of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) essential oil and its major components against plant pathogens. **Letters in Applied Microbiology**, v.44, p.613-618, 2007.
- WEBSTER, R.K.; GUNNELL, S.P. **Compendium of Rice Disease**. St. Paul: APS, 1992. 62p.