

FUNGITOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE HORTELÃ EM *Macrophomina phaseolina* (Tassi.). Goid.

ALEX BÉU SANTOS¹, ANTONIO FRANCISCO DE MENDONÇA JÚNIOR², ANA PAULA MEDEIROS DOS SANTOS RODRIGUES³, ELIENE ARAÚJO FERNANDES¹, LEONARDO SOUZA DO PRADO Jr.^{4*}

¹Graduação em Agronomia, UFCG, Pombal-PB, alexbeuagro@gmail.com, elienearaujo83@gmail.com;

²Prof. Curso de Agronomia, UFCG, Pombal-PB, agromendoncajr@yahoo.com.br;

³Pós-graduação em Fitotecnia, UFERSA, Mossoró-RN, anapaulamsr@yahoo.com.br;

⁴Graduação em Engenharia Ambiental, UFCG, Pombal-PB, leonardojuniorprado@hotmail.com;

Apresentado no
Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia – CONTECC'2017
8 a 11 de agosto de 2017 – Belém-PA, Brasil

RESUMO: O fungo *Macrophomina phaseolina* (Tassi.). Goid é o agente etiológico de uma das principais doenças na cultura do feijão-caupi, vulgarmente conhecida como podridão cinzenta do caule. Em decorrência da falta de produtos fitossanitários registrados para o controle desta doença um aumento na busca por métodos de controle alternativo é cada vez mais comum. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do óleo essencial de hortelã sobre o crescimento micelial do fungo *M. phaseolina*, nas concentrações 0,0, 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0%, mais uma testemunha positiva que constou da aplicação suplementar no meio (BDA) do fungicida Sportak 450 EC (Procloraz). O experimento foi conduzido no delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis tratamentos e cinco repetições. Foram realizadas medições diárias do diâmetro da colônia em dois sentidos perpendiculares até que tomasse toda a superfície do meio de cultura de uma das placas. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para avaliar o efeito dos tratamentos nas variáveis respostas TCM (mm dia⁻¹) e PIC (%). O óleo essencial de hortelã apresentou potencial de inibição do fungo próximo ao obtido pelo fungicida.

Palavras-chave: *Mentha* sp., PIC, TCM, *Vigna unguiculata*.

FUNGITOXICITY OF MINT ESSENTIAL OIL ON *Macrophomina phaseolina* (Tassi.). Goid.

ABSTRACT: *Macrophomina phaseolina* (Tassi.). Goid is the etiological agent of one of the major diseases in cowpea bean crop, commonly known as gray rot stem. Due to the lack of registered phytosanitary products to control this disease, the search for alternative control methods is increasingly common. The objective of this study was to evaluate the effect of essential oil on the mycelial growth of *M. phaseolina*. The oil tested were *Mentha* sp., at concentrations of 0.0, 0.4; 0.6; 0.8 and 1.0%. The experiment was conducted in a completely randomized experimental design, with six treatments and five replications, being a positive control, consisting of the supplemental application in the medium (BDA) of the fungicide Sportak 450 EC (Procloraz). The data were submitted to variance analysis and the means were compared by the Tukey test at 5% probability to evaluate the effect of the treatments on the mycelial growth rate (mm day⁻¹) and mycelial growth rate index. The *Mentha* sp. essential oil presented a potential of inhibition of the fungus close to that obtained by the fungicide.

Keywords: Growth inhibition percentage, *Mentha* sp., mycelial growth rate, *Vigna unguiculata*.

INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos países de maior relevância quando se trata de produção de grãos. Sua produção concentra-se principalmente nas regiões Norte e Nordeste, sendo considerada uma das principais fontes proteicas da alimentação humana (EMBRAPA MEIO NORTE, 2016). Neste cenário, o feijão-caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp., é uma cultura importante para as populações de países subdesenvolvidos, principalmente pela significativa contribuição socioeconômica como suprimento alimentar e fixação de mão de obra no campo (ROCHA et al., 2009).

Apesar da representatividade da cultura do feijão para o país, as doenças estão entre os fatores mais limitantes à produção, sendo responsáveis por perdas qualitativas e quantitativas. Uma das principais enfermidades que acometem o feijão-caupi é a podridão cinzenta do caule, causada pelo fungo *Macrophomina phaseolina*, um dos principais patógenos desta espécie, causando morte de sementes e plântulas, cancro e lesões cinzentas no caule, sobretudo em condições de alta temperatura e deficiência hídrica (PEDROSO, 2012).

O controle químico deste patógeno ainda apresenta baixa eficiência, além de uma série de problemas que vão desde o surgimento de populações resistentes em decorrência do uso contínuo e indiscriminado de agrotóxicos, além da elevada toxicidade para a saúde humana e o meio ambiente. Em decorrência destas práticas, a adoção de técnicas alternativas de controle de fitopatógenos se faz relevante, tanto para a saúde humana quanto para o meio ambiente. Dentre as técnicas, o uso de produtos naturais para o controle de patógenos tem se tornado uma realidade (FONSECA et al., 2015).

A utilização de óleos essenciais tem ocupado espaço cada vez maior, apresentando-se como alternativa no controle de doenças e pragas (OOTANI, 2013). Freire (2006), utilizando óleo essencial de hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.) constatou inibição no crescimento micelial de diferentes fungos. Diante do exposto o presente trabalho teve o objetivo de analisar o efeito fungitóxico *in vitro* de óleo essencial de Hortelã (*Mentha* sp.) sobre o crescimento inicial de *Macrophomina phaseolina* (Tassi.) Goid.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Pombal. Para realização do experimento, utilizou-se um isolado de *Macrophomina phaseolina* (Tassi.) Goid obtido de raízes de feijão-caupi que apresentavam sintomas de podridão cinzenta do caule, e o óleo essencial de *Mentha* sp.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos constaram do meio de cultura BDA suplementado com os óleos essenciais de *Mentha* sp. nas seguintes concentrações: 0,0; 0,4; 0,6; 0,8 e 1%. A testemunha positiva constou da aplicação suplementar no meio BDA do fungicida Sportak 450 EC (Procloraz), utilizado na dose indicada (750 $\mu\text{L L}^{-1}$). As concentrações estabelecidas para aplicação dos óleos essenciais foram tomadas com base em estudos anteriores (SOUZA, 2012).

Os produtos foram adicionados em meio de cultura tipo BDA, após a autoclavagem deste, e quando atingida a temperatura de $\pm 50\text{ }^\circ\text{C}$, em condições assépticas, os meios contendo os tratamentos foram vertidos em placas de Petri de dimensões 90 x 15 mm. Após a solidificação em placa do meio de cultura contendo os tratamentos, discos de 8 mm de outro meio de cultura onde o isolado fúngico era cultivado a sete dias, foram retirados e depositados no centro das placas contendo o meio de cultura já com os tratamentos integrados. Essas placas foram então mantidas em incubadora tipo B.O.D. (biochemical oxygen demand) a $27 \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ para proporcionar o crescimento fúngico.

O crescimento das colônias foi mensurado diariamente em duas direções perpendiculares, até que a colônia tomasse toda a superfície do meio de cultura de uma das placas. O crescimento micelial foi obtido pela medição radial da colônia na placa em dois eixos ortogonais. Os dados de crescimento micelial de cada isolado foram utilizados para calcular a taxa de crescimento micelial (TCM mm h^{-1}), pela equação $\text{TCM} = \frac{\text{DMF} - 0,8}{4}$ onde; o DMF = diâmetro final, 0,8 = ao diâmetro do disco utilizado e 4 = dias de duração do ensaio. Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC), que é expressa pela fórmula: $\text{P.I.C.} = \left[\frac{(\text{crescimento da testemunha} - \text{crescimento do tratamento}) \times 100}{\text{crescimento da testemunha}} \right]$ (EDGINTON et al., 1971).

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para avaliar o efeito dos tratamentos nas variáveis respostas, TCM (mm dia⁻¹) e PIC (%). O modelo estatístico empregado foi: $Y_{ij} = \mu + \tau_i + e_{ij}$. O programa utilizado para as análises foi o ASSISTAT 7.7 Beta. De forma complementar a análise estatística aplicada, procedeu-se análise de regressão para determinação da melhor concentração dos óleos essenciais, através do programa Minitab 17.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos mostram que todos os tratamentos à base do óleo essencial de *Mentha* sp. promoveram redução na taxa de crescimento micelial de *M. phaseolina*, diferindo estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A variação observada foi de 22,30 a 4,63 mm dia⁻¹. O potencial fungistático e fungicida demonstrado pelo óleo, diferenciou-se entre a maior e a menor dose. A diferença percentual da taxa de crescimento micelial expressada pelas doses de 0,4 e 1,0% foi de 22,87%, enquanto que a diferença entre a dose de 1% e o fungicida foi de 18,66% (Tabela 1).

Tabela 1. Taxa de crescimento micelial de *M. phaseolina* sob diferentes concentrações de óleo essencial de hortelã e o fungicida (Sportak 450 EC). Pombal, PB, UFCG, 2016.

Produtos	Concentrações (%)	Tratamentos	TCM (mm dia ⁻¹)	TCM (%)
Hortelã	0,0	T1	22,30a	100,00
	0,4	T2	13,89b	62,29
	0,6	T3	12,32bc	55,25
	0,8	T4	10,54bc	47,26
	1,0	T5	8,79c	39,42
Fungicida (Sportak 450 EC)	750 $\mu\text{L L}^{-1}$	T11	4,52d	20,76
CV (%)	-	-	9,95	

Aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (bilateral).

Estes resultados demonstram que o óleo essencial de hortelã expressou desempenho conveniente, no que diz respeito a redução da taxa de crescimento micelial, havendo uma redução progressiva à medida que se elevaram as concentrações do óleo na solução. Observa-se ainda elevada atividade antimicrobiana, especialmente para o patógeno em questão (Figura 1).

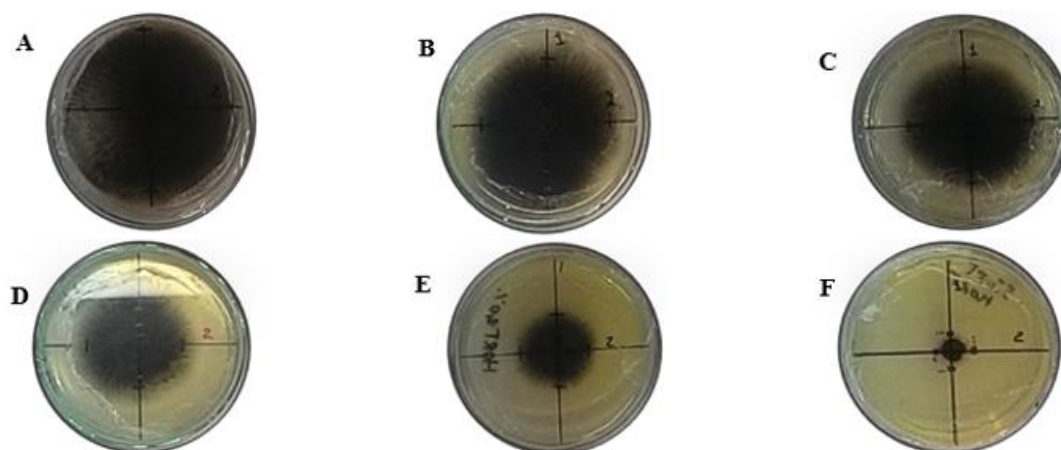


Figura 1. Comparação do crescimento micelial entre os tratamentos com óleo de Hortelã e a testemunha positiva para inibição do fungo. Pombal, UFCG, 2016. A: 0,0% - Testemunha Negativa; B: 0,4%; C: 0,6%; D: 0,8%; E: 1,0%; F: Testemunha Positiva (750 $\mu\text{L L}^{-1}$ de Sportak 450 EC). Fonte: Autor.

Os resultados deste estudo corroboram, com pesquisa realizada por Abdel-Kader et al. (2011), quando identificaram efeito do óleo de hortelã na redução do crescimento micelial do fungo, *M. phaseolina*, nas concentrações de 1,0, 2,0 e 4,0 % do óleo de hortelã. Carnelossi et al. (2009), reportaram que o óleo essencial de hortelã na concentração de 4,0 % tem efeito inibitório total no crescimento micelial da *M. phaseolina*, em testes in vitro. No mesmo sentido, estudos realizados por

Sousa et al. (2012), também identificaram potencial fungitóxico sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, de diferentes óleos essenciais, dentre eles o de hortelã.

Observou-se efeito linear decrescente para a PIC da *M. phaseolina* ao longo do aumento das concentrações do óleo de hortelã. Com incremento de 58,7% na inibição prevista a cada acréscimo unitário das concentrações (Figura 2).

Constatou-se que todos os tratamentos, a base do óleo essencial de hortelã, promoveram inibição no crescimento micelial de *M. phaseolina*, com uma variação no percentual de inibição de 33,9% a 54,4% (0,4 e 1,0%, respectivamente). O potencial fungistático e fungicida demonstrado pelo óleo diferenciou-se entre a maior e menor concentração, entre a dose intermediária e a maior dose. A diferença do PIC entre a maior e menor concentração foi de 20,5 %.

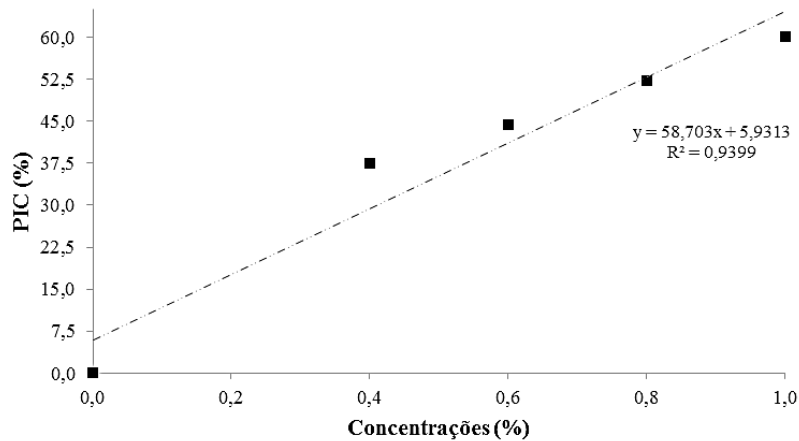


Figura 2. Análise de regressão da inibição do crescimento micelial de *M. phaseolina* em função de diferentes concentrações do óleo essencial de hortelã.

Os resultados encontrados, neste estudo, corroboram com pesquisas anteriores, em que também é verificada redução na PIC à medida que se aumentam as concentrações do óleo essencial de hortelã. Assim, Abdel-Kader et al. (2011) observaram os valores de 37,7, 56,4 e 85,5 % para as respectivas concentrações do óleo, 1,0, 2,0 e 4,0 %. Por sua vez, no presente estudo a concentração de 1,0 % apresentou inibição do crescimento micelial superior a de 2,0 % observada pelos autores supracitados.

Essa inibição é apresentada devido à variedade de fitoquímicos como mentol, acetato de mentilo, viridiflorol e ledol presentes em maior concentração nesse óleo essencial. Ribeiro e Bedendo (1999), constataram que houve efeito inibitório sob *C. gloeosporioides*, ao utilizar o extrato aquoso de folhas de hortelã incorporado ao BDA através da concentração de 200ppm. Khaledi et al. (2015), estudando a atividade antifúngica de vários óleos essenciais contra *Rhizoctonia solani* e *M. phaseolina*, observaram que o óleo de *Mentha piperita* apresentou efeito inibidor do crescimento para ambos os fungos, de 100% na concentração de 2000ppm.

CONCLUSÃO

O óleo essencial de hortelã é um potencial inibidor de *M. phaseolina*. A concentração de 1,0% foi a que apresentou maior inibição do crescimento micelial do patógeno.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-KADER, MOKHTAR; EL-MOUGY, NEHAL; LASHIN, SIRAG. Essential oils and *Trichoderma harzianum* as an integrated control measure against faba bean root rot pathogens. **Journal of Plant Protection Research**, v. 51, n. 3, p. 306-313, 2011.
- ALMEIDA, L. F. R., FREI, F., MANCINI, E., DE MARTINO, L., & DE FEO, V. Phytotoxic activities of Mediterranean essential oils. **Molecules**, v.15, n.6, p.4309-4323, 2010.

- CARNELOSSI, P.R.; SCHUWAN-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. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.11, n.4, p.399-406, 2009.
- EDGINTON, L. V.; KHEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology**, v.62, n.7, p.42-44, 1971.
- EMBRAPA MEIO NORTE, 2016. **A cultura do feijão-caupi no Brasil**. Teresina - Piauí: Embrapa Meio Norte, 2016. Disponível em: <ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/156725/1/Cap1a12.pdf>. Acesso em: 10/03/2017. Embrapa/CPATU, 1994. 24 p. (Documentos, 75).
- FONSECA, M. C. M.; LEHNER, M. D. S.; GONÇALVES, M. G.; JÚNIOR, P.; SILVA, A. F.; BONFIM, F. P. G. & PRADO, A. L. Potencial de óleos essenciais de plantas medicinais no controle de fitopatógenos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, p.45-50, 2015.
- FREIRE, M. M. **Composição e atividade antifúngica do óleo essencial de hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.)**. 2006. 67 f. 2006. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- KHALEDI, NIMA; TAHERI, PARISSA; TARIGHI, SAEED. Antifungal activity of various essential oils against *Rhizoctonia solani* and *Macrophomina phaseolina* as major bean pathogens. **Journal of applied microbiology**, v.118, n.3, p. 704-717, 2015.
- OOTANI, M. A.; AGUIAR, R. W.; RAMOS, A. C.; BRITO, D. R.; SILVA, J. B. D. & CAJAZEIRA, J. P. Use of essential oils in agriculture. **Journal of biotechnology and biodiversity**, v. 4, n. 2, p. 162-175, 2013.
- PEDROSO, C. **Incidência, controle de doenças de feijão-vagem e anatomia e histoquímica de *Phaseolus vulgaris* e *Vigna unguiculata* resistentes e suscetíveis ao oídio (*Erysiphe polygoni*)**. 2012.
- RIBEIRO, L.F.; BEDENDO, I.P. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* - agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. **Scientia Agricola**, v.56, n.4, Supl, p.1267-1271, 1999.
- ROCHA, M. DE M.; CARVALHO, K. J. M.; FREIRE FILHO, F. R.; LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F.; SOUSA, I. S. Controle genético do comprimento do pedúnculo em feijão-caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 3, p. 270-275, 2009.
- 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**, v.38, n.1, p.42-47, 2012.