



**AVALIAÇÃO DO EFEITO FUNGITÓXICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS E  
HIDROLATOS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES EM *Colletotrichum  
gloeosporioides*, AGENTE CAUSAL DA ANTRACNOSE DO MARACUJAZEIRO-  
AZEDO (*Passiflora edulis Sims*) IN VITRO**

**EVALUATION OF THE FUNGITOXIC EFFECT OF ESSENTIAL OILS AND  
HYDROSOLS IN DIFFERENT CONCENTRATION IN *Colletotrichum  
gloeosporioides*, CAUSAL AGENT OF ANTHRACNOSE OF YELLOW PASSION  
FRUIT (*Passiflora edulis Sims*) IN VITRO**

**Autores:** Leticia Vitória da SILVA<sup>1</sup>; Leonardo Cerchiarri VIEIRA<sup>1</sup>; Tainá Fraga de Melo<sup>2</sup>; Rodrigo Martins MONZANI<sup>3</sup>.

**Identificação autores:** a) <sup>1</sup>PIBIC-EM/CNPq, Curso Técnico em Agropecuária Integrado ao Ensino Médio; b) <sup>2</sup>Técnico do Laboratório de Produção Vegetal do IFC – Campus Araquari; c) <sup>3</sup>Orientador do IFC – Campus Araquari.

### RESUMO

O experimento foi instalado no Laboratório de Produção Vegetal do Campus Araquari. Após o isolamento do patógeno de folhas sintomáticas de maracujazeiro-azedo, obteve-se os hidrolatos e óleos essenciais de melaleuca, pitanga, citronela, limão-cravo, losna e boldo, utilizando-se o método de hidrodestilação. A determinação das concentrações teve como base o quantitativo dos produtos destilados. Adotou-se um delineamento experimental inteiramente casualizado, num fatorial 6x5 (plantas x concentrações), em triplicata. A avaliação do crescimento micelial do *Colletotrichum gloeosporioides* nos tratamentos prosseguiu por 15 dias. Concluiu-se que os óleos essenciais de citronela e limão-cravo a partir de 5,0% inibiram o crescimento do fungo.

**Palavras-chave:** Antracnose. Óleos essenciais. Fungitoxidade.

### ABSTRACT

The experiment was installed at the Plant Production Laboratory at IFC-Araquari. After the isolation of the pathogenic agent through symptomatic yellow passion fruit leaves, the essential oils / hydrosol of fungicidal plants (such as melaleuca, brazilian cherry, citronella, clove cemon, losna and loldo) were obtained using the drag hydrodistillation method. The concentration determination was based on the quantity of distilled oil / hydrosol. An experimental design based on a factorial scheme 6x5 (number of oils x maximum number of filters) multiplied by 3 was adopted. An evaluation of the mycelial growth of the fungus *Colletotrichum gloeosporioides* on essential oils / hydrosols was conducted for 15 days, it is possible that the natural oils of citronella and clove lemon the concentration shifts 5,0% the put fungal growth.

**Keywords:** Anthracnose. Essential oils. Fungitoxic.

### INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis Sims*) pertencente à Família Passifloraceae, gênero *Passiflora*, sendo uma cultura típica de países tropicais, responsáveis por cerca de 90% da produção mundial. O Brasil é o maior produtor

mundial, com cerca de 1 milhão de t colhidas por ano, sendo os frutos de Santa Catarina considerados os melhores para o consumo *in natura*. No entanto, o maracujazeiro-azedo sofre com a incidência de várias doenças que depreciam a qualidade do fruto, reduzindo a produtividade e a longevidade da cultura, como a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides*.

Como há uma tendência para se obter medidas mais eficazes, econômicas e ecologicamente corretas no controle de doenças em plantas, que possam ser utilizadas inclusive associadas às outras medidas de controles, na perspectiva do manejo integrado, a utilização de óleos essenciais e extratos vegetais surge como grande potencial para o controle de pragas e fitopatógenos. O uso de óleos essenciais e hidrolatos (solução de princípio ativo obtida pela ação da água sobre substratos vegetais) já demonstraram resultados bastante promissores em testes *in vitro*, em casa-de-vegetação e em estudos à campo.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência fungitóxica dos óleos essenciais vegetais de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), pitanga (*Eugenia uniflora*), limão-cravo (*Citrus x limonia*), citronela (*Cymbopogon winterianus*), como também dos hidrolatos de losna (*Artemisia absinthium*) e boldo (*Peumus boldus*), nas concentrações 0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10% sobre do fungo *Colletotrichum gloeosporioides in vitro*, através da determinação da inibição do crescimento micelial da colônia fúngica.

## METODOLOGIA

O experimento foi instalado no Laboratório de Produção Vegetal e Unidade de Ensino e Aprendizagem (UEA) de Fruticultura do Instituto Federal Catarinense - Campus Araquari no período de agosto de 2018 a julho de 2019.

### 1. Isolamento do patógeno (*Colletotrichum gloeosporioides*)

O fungo *C. gloeosporioides* foi isolado a partir de folhas de maracujazeiro-azedo sintomáticas. Pedacinhos do tecido foliar com aproximadamente 0,2 mm foram retirados das folhas, na região de transição entre a área sintomática e assintomática. Os fragmentos do tecido foram superficialmente desinfestados com álcool à 70% por 30 s, hipoclorito de sódio à 2,0% por 30 s, sendo enxaguados por três vezes em água destilada esterilizada por 1 min. Em seguida, os tecidos vegetais foram transferidos para o centro das placas de Petri contendo meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar) e, em seguida, foram repicados e armazenados na estufa à 25 °C para o desenvolvimento do fungo e realização das demais etapas do experimento.

### 2. Extração dos óleos essenciais e hidrolatos

Para a obtenção dos óleos essenciais e hidrolatos foram escolhidas seis espécies de plantas com potencial fungitóxico, de acordo com a bibliografia, tais como o boldo (*Peumus boldus*), citronela (*Cymbopogon winterianus*), limão-cravo (*Citrus x limonia*), losna (*Artemisia absinthium*), melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) e pitanga (*Eugenia uniflora*).

A extração dos óleos essenciais e hidrolatos foi realizada através da hidrodestilação por arraste conduzida em aparelho Clevenger, utilizando-se 2 kg de material verde picado para 2 L de água destilada, em temperatura máxima (100 °C) até atingir a fervura, sendo após reduzida para 75 °C, por um período de 2 h. Os óleos

essenciais e os hidrolatos foram coletados com uma pipeta e armazenados em frascos âmbar protegido da luz com papel alumínio em refrigerador à 5 °C, devidamente identificados. Para a obtenção dos óleos essenciais mais virgens, realizar-se ainda o processo de centrifugação e posterior pipetagem em frascos Eppendorf de 2,0 mL, sempre armazenando-os em ausência de luminosidade.

### 3. Determinação das concentrações dos óleos essenciais e hidrolatos

A determinação das concentrações dos óleos e hidrolatos foi realizada em função das quantidades obtidas após a destilação, sendo que cada planta produz uma qualidade bastante variável de óleo após o processo de extração. Utilizou-se nas placas de Petri com meio BDA a quantidade de 0,5 mL dos óleos essenciais e hidrolatos nas concentrações de 0%, com e sem água, 2,5%, 5,0%, 7,5% e 10%, com as soluções mantidas em tubos de ensaio.

### 4. Avaliação da inibição do crescimento micelial *in vitro*

Foi adotado um delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), num esquema fatorial 6 x 5, sendo o primeiro fator o óleo/hidrolato das espécies vegetais e o segundo as concentrações, sendo cada tratamento realizado em triplicata. Após a inserção dos 0,5 mL dos óleos essenciais e hidrolatos nas placas de Petri com meio BDA e distribuição homogênea na superfície com alça de Drigalski, um disco de micélio de *C. gloeosporioides* com aproximadamente 7 mm de diâmetro foi inserido no centro da placa. As avaliações ocorreram diariamente durante 15 dias, a partir de 22 de maio de 2019. O crescimento micelial foi determinado com o auxílio de um paquímetro digital Kingtools 150 mm diariamente às 11 h. Os dados foram coletados e tabulados em planilha eletrônica e analisados estatisticamente com o auxílio do programa SASM-Agri utilizando Análise da Variância (ANOVA) e teste de separação de médias Scott-Knott, ao nível de significância de 1% (Figura 01).

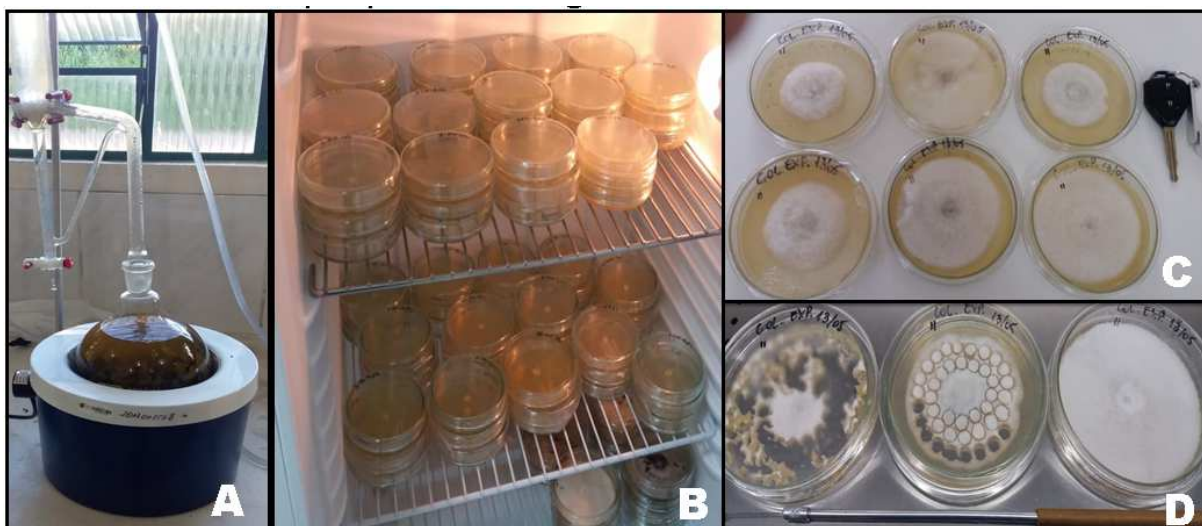


Figura 1. A) Destilação do óleo de citronela como aparelho de Clevenger. B) Placas de Petri com óleos/hidrolatos e desenvolvimento micelial do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* nas diferentes concentrações, no primeiro dia de medição. C) Colônias de *C. gloeosporioides* em dois diferentes tratamentos, em triplicata. D) Colônias *C. gloeosporioides* utilizadas para a implantação do experimento, após esporulação.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na Tabela 01 estão dispostos os resultados obtidos das medições diárias das colônias de *C. gloeosporioides* submetidas aos óleos essenciais de citronela, melaleuca, limão-cravo e pitanga, além dos hidrolatos de boldo do Chile e losna, nas concentrações de 0%, com e sem água, 2,5%, 5,0%, 7,5% e 10%, durante os 15 dias de avaliação.

Tabela 01 - Crescimento micelial *in vitro* do *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da antracnose no maracujazeiro-azedo, submetidas aos óleos essenciais de citronela, melaleuca, limão-cravo e pitanga, além dos hidrolatos de boldo e losna, nas concentrações de 0%, com e sem água, 2,5%, 5,0%, 7,5% e 10%, após 15 dias de avaliação.

Óleos essenciais e Hidrolatos	Avaliação		Avaliação		Avaliação		Avaliação	
	(cm)		(cm)		(cm)		(cm)	
Concentrações	2,5%		5,0%		7,5%		10%	
1.Melaleuca	9,43	b	9,31	b	9,29	b	9,43	*b
2.Limão-cravo	7,04	a	6,30	a	2,42	a	3,67	a
3.Pitanga	9,22	b	9,30	b	9,31	b	9,47	b
4.Citronela	9,03	b	3,67	a	0,77	a	0,77	a
5.Hid. Boldo	9,47	b	9,31	b	9,47	b	9,47	b
6.Hid. Losna	9,47	b	9,47	b	9,43	b	9,47	b
7.Controle s/ água	9,47	b	9,47	b	9,47	b	9,47	b
8.Controle c/ água	9,47	b	9,47	b	9,47	b	9,47	b

\*significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ) pelo teste de separação de médias Scott-Knott.

Após análise dos dados de crescimento micelial do *C. gloeosporioides* nos diferentes óleos e hidrolatos comparados aos controle com e sem água, é possível constatar que os hidrolatos de boldo do Chile e losna, além dos óleos essenciais de melaleuca e pitanga não diferiram dos controles, não apresentando, portanto, efeito inibitório para o fungo testado, em nenhuma das concentrações.

Já os óleos essenciais de citronela e limão-cravo, principalmente a partir da concentração de 5,0%, se apresentaram bastante eficientes na inibição do crescimento micelial do fungo *in vitro*, com potencial para serem utilizados no controle da antracnose em folhas e frutos.

Em trabalho realizado por Ramos et al. (2016), o óleo essencial de *C. winterianus* (citronela) apresentou atividade antifúngica sobre *C. gloeosporioides*. Isso se deve a ação fungicida, repelente e bactericida da planta, pelo seu alto teor de geraniol e citronelal.

Em trabalho realizado por Pires & Piccoli (2012), comparando-se a ação inibitória do óleo essencial de limão-cravo, observou-se que o óleo da folha promoveu melhor inibição do crescimento de *Candida utilis* em concentrações mais baixas que o óleo da casca do limão-cravo. Já para as concentrações mais altas, os óleos da casca e da folha do limão-cravo não diferiram estatisticamente entre si. Não há na literatura registros de testes anteriores do uso do óleo essencial de limão-cravo em fungos fitoptogênicos, como o *C. gloeosporioides*.

Apesar do óleo essencial de melaleuca não ter se apresentado eficiente na inibição do crescimento micelial do *C. gloeosporioides*, nos trabalhos de Ramos et al. (2016) e Barbosa et al. (2015), o óleo de melaleuca apresentou importante atividade antifúngica em concentração abaixo de 1,0%, sendo os principais componentes do

óleo de melaleuca o terpinen-4-ol que apresenta atividade antimicrobiana e o 1,8-cineol. Provavelmente, da planta onde foram coletadas as folhas, o teor de terpinen-4-ol era baixo, explicando a baixa eficácia apresentada na inibição do *C. gloeosporioides*.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas condições em que o experimento foi realizado, é possível afirmar que os óleos essenciais de citronela e limão-cravo possuem princípios fungicidas para a inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, *in vitro*, agente causal da antracnose no maracujazeiro-azedo, a partir da concentração de 5,0%, sendo possíveis alternativas para o controle da doença.

### REFERÊNCIAS

BARBOSA, M. S. et al. Atividade biológica *in vitro* de própolis e óleos essenciais sobre o fungo *Colletotrichum musae* isolado de bananeira (*Musa* spp.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.17, n.2, p.254-261, 2015.

PIRES, T. C.; PICCOLI, R. H. Efeito inibitório de óleos essenciais do gênero *Citrus* sobre o crescimento de microorganismos. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 2, p. 378-385, 2012.

RAMOS, K. et al. Óleos essenciais e vegetais no controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.18, n.2, p. 605-612, 2016.