

Utilização da farinha e óleo de noni no controle alternativo de *Rhizoctonia solani* em soja

Use of flour and noni oil in the alternative control of *Rhizoctonia solani* in soy

DOI:10.34117/bjdv7n4-190

Recebimento dos originais: 23/03/2021

Aceitação para publicação: 08/04/2021

Alessandra Macedo Barros

Mestranda em Biotecnologia, Universidade Federal do Tocantins

E-mail: macedo46@outlook.com

Talita Pereira de Souza Ferreira

Docente do Curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Federal do Tocantins,

E-mail: talitapsf@uft.edu.br

Dalmarcia de Souza Carlos Mourão

Doutoranda em Produção Vegetal, Universidade Federal do Tocantins

E-mail: dalmarciaadm@yahoo.com.br

Tatiani Pereira de Souza Ferreira

Doutoranda em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia, Universidade Federal do Tocantins

E-mail: nanatpsf@yahoo.com.br

Claudiany Silva Leite Lima

Mestre em Biotecnologia, Universidade Federal do Tocantins

E-mail: claudianymilk@uft.edu.br

Robson dos Santos Barbosa

Doutorando em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia, Universidade Federal do Tocantins

E-mail: robson.barbosa@uft.edu.br

Lenise Cristina Battistelli

Mestranda em Biotecnologia Industrial, Universidade de São Paulo

E-mail: le.cb2@hotmail.com

Gil Rodrigues dos Santos

Docente do Curso de Agronomia, Universidade Federal do Tocantins

E-mail: gilrsan@mail.uft.edu.br

RESUMO

A planta noni como é conhecida popularmente, é utilizada pelos seus efeitos com atividade antibacteriana. A fruta possui características medicinais, combatendo bactérias, infecções virais, parasitárias e fúngicas. A soja é a cultura agrícola que mais cresceu nas últimas três décadas no Brasil e corresponde a 49% da área plantada em grãos do país. Como toda cultura a soja é afetada por patógenos, um dos principais problemas que limitam a obtenção de altos rendimentos, mesmo em áreas em expansão. Dentre as doenças, o tombamento, é causada pelo fungo *R. solani* um patógeno habitante do solo. Neste contexto, o controle alternativo de doenças de plantas utiliza produtos naturais com atividade antimicrobiana direta. O trabalho teve como objetivo avaliar o potencial do resíduo orgânico (farinha) de noni e o óleo do fruto noni no controle alternativo de *R. solani* em soja. O fungo *R. solani* foi isolado a partir de lesões presentes em plantas de soja (*Glycine max*) com sintomas da doença, sendo cultivado em meio BDA (Batata dextrose ágar). O material vegetal passou pelo processo de lavagem, homogeneização e secagem em estufa a 60 °C durante 72 h, sendo posteriormente triturado e armazenado em recipiente fechado a 25 ± 1°C, até sua utilização. O óleo essencial foi extraído empregando o método de hidrodestilação, utilizando-se o aparelho de Clevenger modificado. Entre os extratos e o óleo essencial de noni testados, o que apresentou melhor efeito antifúngico sobre o fitopatógeno *R. solani* foi o óleo, com inibição de 100% na maior concentração.

Palavras-chave: noni, controle alternativo, patógeno, óleo essencial.

ABSTRACT

The noni plant as it is popularly known, is used for its effects with antibacterial activity. The fruit has medicinal characteristics, fighting bacteria, viral, parasitic and fungal infections. Soy is the fastest growing agricultural crop in the last three decades in Brazil and accounts for 49% of the country's planted grain area. Like any other crop, soy is affected by pathogens, one of the main problems that limit high yields, even in expanding areas. Among the diseases, tumbling is caused by the fungus *R. solani*, a soil-dwelling pathogen. In this context, the alternative control of plant diseases uses natural products with direct antimicrobial activity. The objective of this work was to evaluate the potential of the organic residue (flour) of noni and the oil of noni fruit in the alternative control of *R. solani* in soybean. The fungus *R. solani* was isolated from lesions present in soy plants (*Glycine max*) with symptoms of the disease, being cultivated in BDA (potato dextrose agar) medium. The plant material went through the process of washing, homogenization and drying in an oven at 60 °C for 72 h, and then ground and stored in a closed container at 25 ± 1°C, until its use. The essential oil was extracted by hydrodistillation using a modified Clevenger apparatus. Among the noni extracts and essential oil tested, the oil showed the best antifungal effect on the phytopathogen *R. solani*, with 100% inhibition at the highest concentration.

Keywords: noni, alternative control, pathogen, essential oil.

1 INTRODUÇÃO

A planta *Morinda citrifolia* L. conhecida popularmente como noni, é utilizada tradicionalmente pelos seus efeitos com atividade antibacteriana, sendo já utilizado há mais de dois mil anos. A fruta possui características medicinais, previne várias doenças,

e é usada principalmente para estimular o sistema imunológico, combatendo bactérias, infecções virais, parasitárias, fúngicas e também para prevenir a formação e a proliferação de tumores, incluindo malignos (NASCIMENTO et al., 2018)

A soja (*Glycine max*) é a cultura agrícola que mais cresceu nas últimas três décadas no Brasil e corresponde a 49% da área plantada em grãos do país. Como toda cultura, a soja também é afetada por patógenos, os quais são causadores de muitos prejuízos aos agricultores. Aproximadamente 40 doenças causadas por fungos, bactérias, nematoides e vírus já foram identificadas no Brasil. As perdas anuais de produção por doenças são estimadas em cerca de 15% a 20%, entretanto, algumas doenças podem ocasionar perdas de quase 100% (EMBRAPA, 1999).

O fungo *Rhizoctonia solani* Kühn [anamórfo *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk] é um patógeno habitante do solo que apresenta alta capacidade de saprofitismo, e sobrevive por longo período na ausência de hospedeiros através de estruturas de resistência chamadas de escleródios (PAPAVIZAS; DAVEY, 1961). Em soja, o fungo é o principal agente causador do tombamento. A ocorrência do tombamento por *R. solani* pode ser reduzida por tratamento das sementes com fungicidas, rotação de cultura com gramíneas e incorporação dos restos culturais. Neste contexto, insere-se o controle alternativo de doenças de plantas, que inclui o controle biológico, a indução de resistência e o uso de produtos naturais com atividade indutora de resistência e/ou com atividade antimicrobiana direta (SCHAWN-ESTRADA; STANGARLIN, 2005).

Novas medidas de proteção de plantas contra doenças têm sido pesquisadas no intuito de minimizar os efeitos negativos do uso de pesticidas (POPIA et al., 2007). Dentre os métodos alternativos do controle de doenças, destaca-se a potencialidade do uso de resíduos vegetais de espécies potencialmente fungitóxica, incorporados ao solo. Vale ressaltar que, resultados satisfatórios já foram obtidos em diversos experimentos que testaram a matéria orgânica como condicionador físico, químico e biológico, visando à melhoria da qualidade do solo e a supressão à algumas doenças que afetam determinados tipos de plantas, principalmente as causadas por microrganismos habitantes do solo (CAFÉ-FILHO, 2000).

A maioria dos estudos conduzidos atualmente utilizam resíduos de brássicas na supressão de patógenos habitantes de solo. Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo, avaliar o potencial do resíduo orgânico (farinha) de noni e óleo essencial de noni no controle alternativo de *R. solani* em soja, através de testes *in vitro* e tratamento de sementes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido em condições de laboratório e casa de vegetação, no Campus de Gurupi, na Universidade Federal do Tocantins.

Obtenção do fitopatógeno

O fungo *R. solani* foi isolado a partir de lesões presentes em plantas de soja (*G. max*) com sintomas da doença, sendo cultivado em meio BDA (Batata dextrose ágar). O isolado foi mantido em condições adequadas ao crescimento sob fotoperíodo de 4°C até a sua utilização.

Obtenção, análises químicas e microbianas da farinha de noni

As folhas e frutos de noni foram coletadas e após a coleta o material vegetal passou pelo processo de lavagem, e secagem em estufa a 60 °C por 72 h, sendo posteriormente triturado e armazenado em recipiente fechado a 25 ± 1°C, até sua utilização. Para análise das propriedades químicas, a farinha de noni foi encaminhada para o Laboratório de Análises de Solo da Universidade Federal do Tocantins/TO.

A análise microbiológica da farinha foi realizada em laboratório, de acordo com Nakasone et al. (1999). O extrato aquoso foi preparado pela imersão da farinha em água destilada por 24 h a 25 °C, seguidos de filtragem. Para quantificação das bactérias totais, 200 µL do extrato aquoso da farinha a 10 % foi adicionado sobre placas de Petri contendo meio de cultura BDA. No levantamento dos fungos totais, 0,5 g da farinha foi espalhado sobre o meio BDA contendo antibiótico e após incubadas à ± 26 °C sob fotoperíodo. As avaliações foram realizadas de acordo com BARNETT & HUNTER (1972).

Crescimento micelial e germinação de escleródios em função de concentrações crescentes do extrato da farinha da folha e fruto do noni e óleo essencial do noni

O ensaio foi realizado em esquema fatorial com três repetições, testando-se as concentrações 0, 2, 4, 6, 8 e 10 % do extrato da farinha de noni, por 10 dias de avaliação após implantação. Para obtenção do extrato, as folhas e frutos passaram pelo mesmo processo anterior, foram triturados e submetidos a extrações com acetato de etila a frio, foram utilizados 15,42g de farinha da folha e 65,73g de farinha do fruto, para 600 mL de solvente em cada extração por um período de 7 dias. Após este período, a mistura foi filtrada e evaporada sob pressão reduzida utilizando rotoevaporador para a obtenção dos extratos (COSTA et al., 2008).

Para o teste de germinação, 200 μ L do extrato em cada concentração foi colocado sobre as placas de Petri contendo discos de micélio de *R. solani*, e vedadas com parafilme®. Como controle foram preparadas 3 placas contendo discos de micélios-ágar sem a adição dos extratos e incubadas a 25°C por dez dias. As avaliações foram realizadas com intervalos regulares de 48 horas, nos dois ensaios. A partir dos valores obtidos do diâmetro médio do fungo foi calculado a porcentagem de inibição do crescimento micelial para os respectivos tratamentos.

Para a avaliação do efeito do extrato da farinha e da folha de noni, na germinação de escleródios, as placas que houve crescimento do fungo fitopatogênico foram observadas por mais 10 dias. Ao final deste tempo, os escleródios foram contados e comparados com o controle positivo (sem adição de extrato).

O óleo essencial utilizado foi extraído de frutos maduros de noni. Para a extração do óleo essencial foi empregado o método de arraste a vapor, utilizando-se o aparelho de Clevenger modificado (LIMA et al., 2009).

Interferência fisiológica da farinha de noni no tratamento de sementes de soja

As sementes da soja foram submetidas aos seguintes tratamentos: 0 (controle), imersão das sementes em hipoclorito de sódio (1%) por 3 minutos, e em doses (2, 4, 6, 8 e 10 g) da farinha de noni umedecidos em água esterilizada. Após a aplicação dos tratamentos, as sementes foram colocadas para germinar em solo estéril. A porcentagem de germinação foi avaliada aos 10 dias, considerando-se como plântulas normais aquelas com todas as suas estruturas essenciais bem desenvolvidas (BRASIL, 2009). O índice de velocidade de germinação foi conduzido juntamente com o teste de germinação. O índice foi calculado utilizando-se a fórmula proposta por MAGUIRE (1962).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fungo fitopatogênico *R. solani* foi isolado eficientemente de plantas de soja com sintomas da doença (tombamento) e seu armazenamento foi satisfatório, pois permaneceu vivo até a sua utilização. A farinha da folha e do fruto noni teve um rendimento suficiente para todos os testes realizados com as mesmas.

Na análise dos compostos químicos do óleo do noni, foram identificados os seguintes compostos: ácido octanóico (82,24%), ácido hexanóico (8,26%) e 3-metilbutil octanoato (4,25%). Tais compostos foram identificados em maior porcentagem no óleo

essencial do noni. Em relação as propriedades químicas da farinha da folha e do fruto do noni, os compostos ainda serão analisados.

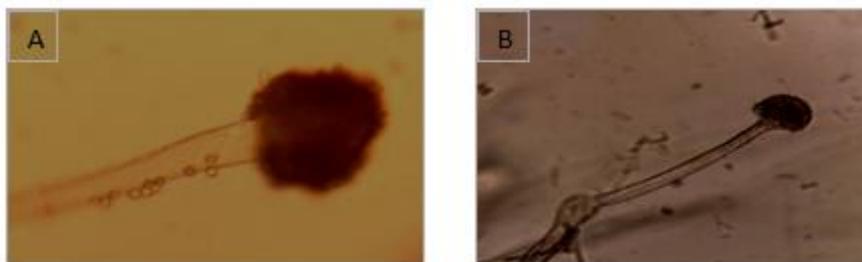
Segundo estudos realizados por Osorio et al. (2017), suas análises demonstraram resultados semelhantes, onde foi constatado 82,24% de ácido octanóico.

Em relação as análises de quantificação de bactérias totais presentes na farinha do fruto e folha do noni. As bactérias identificadas apresentaram forma circular, irregular e rizoide para ambos, a elevação identificada foi convexa, plana e papilada e a margem observada foi ondulada, lobulada, inteira e filamentososa.

Não foram encontrados trabalhos na literatura pesquisada com resultados iguais ou parecidos sobre a presença de bactérias na farinha do fruto noni e folha do noni. Estas bactérias encontradas nas folhas e frutos de noni provavelmente são endofíticas nos tecidos da planta.

Quanto a identificação de fungos presentes no fruto noni e na folha do noni, apenas dois gêneros de fungos foram identificados na farinha do noni, sendo: *Aspergillus* e *Rizhopus*.

Figura 1 - Fungos identificados na farinha do noni: *Rizhopus* (A), *Aspergillus flavus* (B).



Segundo Baiocco (2016), em testes realizados com o extrato aquoso de folhas secas de noni, o mesmo não afetou o crescimento de *Aspergillus flavus* e *Rizhopus* nas sementes de arroz. Esta probabilidade de não afetar diretamente no crescimento deste fungo pode ser justificada pela presença do mesmo na farinha da folha e do fruto noni.

Para os ensaios feitos com o extrato do fruto e extrato da folha do noni, o crescimento micelial do fitopatógeno foi observado em todas as concentrações testadas (1.250, 2.500, 5.000, 10.000 e 50.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$), semelhante ao controle (Testemunha).

Figura 1A - Atividade fungitóxica do extrato do fruto de noni *Morinda citrifolia L.* sobre o crescimento micelial do fungo fitopatogênico *Rhizoctonia solani*.

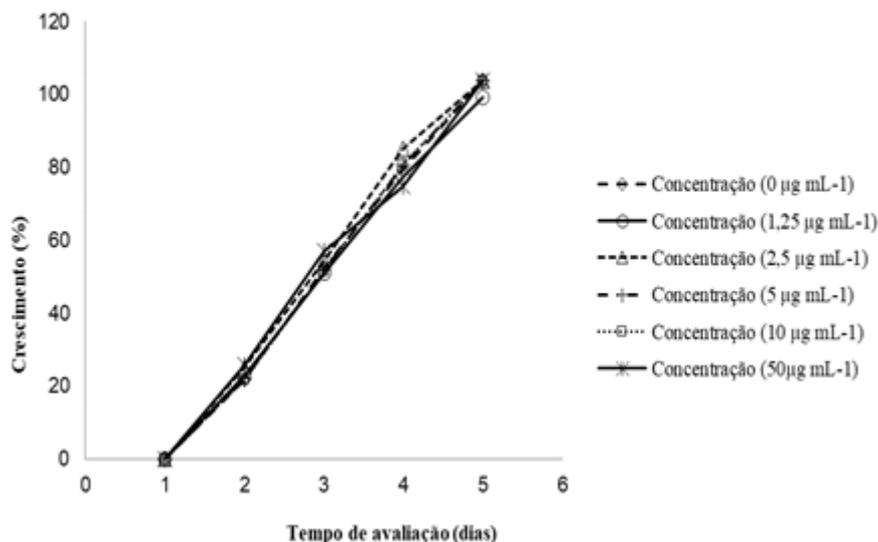
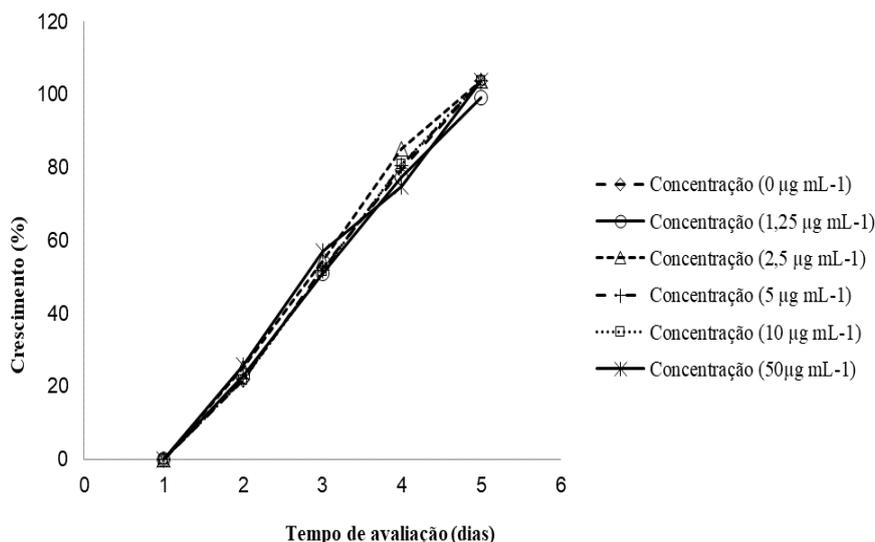


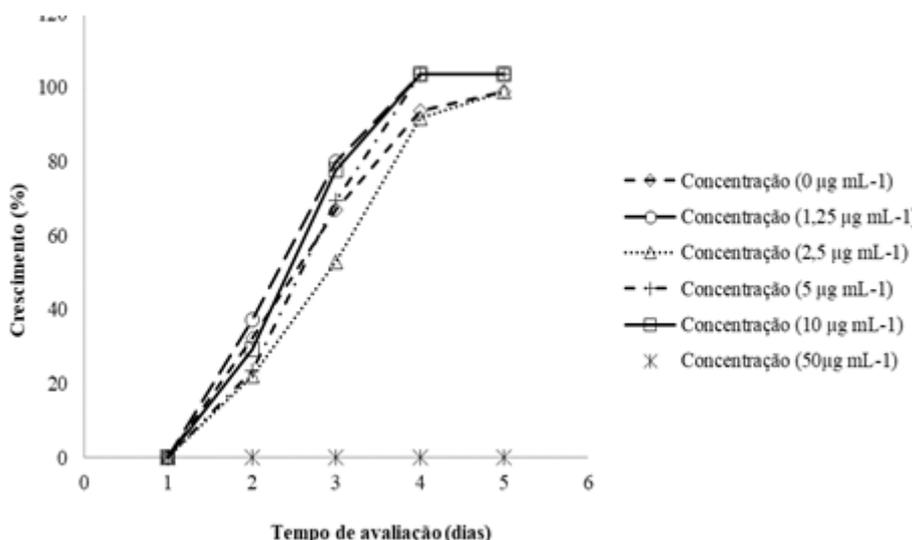
Figura 1B - Atividade fungitóxica do extrato da folha de noni *Morinda citrifolia* L. sobre o crescimento micelial do fungo fitopatogênico *Rhizoctonia solani*.



De acordo com a literatura de Baiocco (2016), o extrato das folhas secas de noni também não apresentou efeito inibitório sobre os fungos fitopatogênicos *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp.

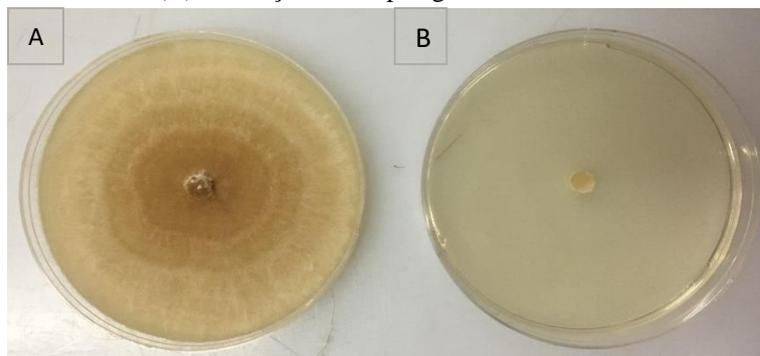
Na avaliação usando o óleo essencial do fruto noni foram preparadas as mesmas concentrações como no teste anterior, sendo usadas com a mesma finalidade do extrato. O efeito do óleo essencial de noni começou a ser observado assim que a testemunha atingiu completamente a placa de Petri. Enquanto que na maior concentração (50.000 µg mL⁻¹) houve inibição de 100% do crescimento micelial do fungo fitopatogênico *R. solani*.

Figura 2A - Atividade fungitóxica do óleo essencial de noni *Morinda citrifolia* L. sobre o crescimento micelial do fungo fitopatogênico *Rhizoctonia solani*.



O efeito do óleo essencial de *M. citrifolia L.* começou a ser observado assim que a testemunha atingiu completamente a placa de Petri. Enquanto que na maior concentração ($50.000 \mu\text{g mL}^{-1}$) houve inibição de 100% do crescimento micelial do fungo fitopatogênico *Rhizoctonia solani*.

Figura 2B - Testemunha (A) x Inibição do fitopatógeno usando óleo *Morinda citrifolia L.* (B)



Segundo Dalcin et al. (2017), há poucos estudos usando o óleo essencial de noni em termos de atividades antifúngicas. Contudo, em seus experimentos usando óleo de noni, foi constatado que, a partir do nível de dosagem de 0,5%, houve inibição de crescimento micelial do fungo *S. cucurbitacearum* pelo óleo essencial de noni, e em concentração de 1% a inibição do crescimento foi total.

O teste de interferência fisiológica da farinha de noni no tratamento de sementes de soja, não foi promissor. O teste realizado em solo, usando a farinha do fruto e da folha do noni, teve resultado parcialmente positivo, pois houve crescimento somente das testemunhas.

Não há estudos na literatura pesquisada que justifique essa ocorrência, porém o motivo dessa ausência germinativa seja devido a toxidez presente na farinha do noni ou metabólitos produzidos pela farinha, impedindo assim a germinação das sementes.

4 CONCLUSÃO

Diante do exposto pôde se concluir que, o noni cultivado no solo Tocantinense apresenta fungos e bactérias endofíticos os quais devem ser melhor estudados. Dentre os isolados fúngicos identificados foram encontrados os gêneros *Aspergillus* e *Rizhopus*. Microrganismos endofíticos atualmente têm despertado grande interesse nas áreas biotecnológicas e agrônômica, e podem ser utilizados visando solucionar problemas relacionados à agricultura sustentável, como por exemplo no biocontrole de doenças fúngicas. Entre os extratos e o óleo essencial de noni testados, o que apresentou melhor efeito antifúngico sobre o fitopatógeno *Rhizoctonia solani* foi o óleo essencial do noni, com inibição de 100% na maior concentração. Diante deste resultado, pode-se ampliar a realização de mais testes em diferentes outros fitopatógenos.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A.M.R.; FERREIRA, L.P.; YORINORI, J.T.; SILVA, J.F.V.; HENNING, A.A.; GODOY, C.V.; COSTAMILAN, L.M.; MEYER, M.C. Doenças da soja (*Glycine max* L.). In: KIMATI, H. et al. Manual de Fitopatologia, v.2. Doenças de plantas cultivadas. São Paulo: Ceres, 2005. p.569-588.

BAIOCCO, A.L.; SILVA, J. extract of the influence of noni sheets (*morinda citrifolia linn*) (gentianales: rubiaceae) in fungi in seeds spread, v.3, n.1 2016 p.50-59

BARNETT, H.C.; HUNTER, B.B. 1972. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 3.ed. Mineapolis: Burgess Publishing. 241p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399p.

CAFÉ FILHO, A.C.; LOBO JÚNIOR, M. Manejo de fatores físicos e culturais para o controle de patógenos de solo. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.8, p.267-301, 2000

COSTA, F. J.; BANDEIRA, P. N.; ALBURQUERQUE, M. R. J. R.; PESSOA, O. D. L.; SILVEIRA, E. R. BRAZ-FILHO, R. Constituintes Químicos de *Vernonia chalybaea* Mart. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1691-1695, 2008.

DALCIN, M.S.; CAFÉ-FILHO, A. C.; SARMENTO, R. A.; NASCIMENTO, I. R.; FERREIRA, T. P.S.; AGUIAR, R. W. S.; SANTOS, G. R. Evaluation of essential oils for preventive or curative management of melon gummy stem blight and plant toxicity. *Journal of Medicinal Plants Research*, v. 11, n. 26, p. 426-432, 2017

EMBRAPA. **Recomendações técnicas para a cultura da soja na região central do Brasil 1999/2000**. Londrina: Embrapa Soja, 1999. 226p. (Documentos, 132)

LIMA, Rafaela Karin et al. Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta amazônica**, v. 39, n. 2, p. 377-382, 2009.

MAGUIRE, J.D. speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.1, p.176-177, 1962.

NASCIMENTO, L.C.S.; RODRIGUES, N.R.; ALVES, M.P.C.; SABAA, S.A.U.O.; JUNIOR. B.J.L.; BARBOSA, M.I.M.J. Chemical characterization, nutritional aspects and antioxidant capacity of noni (*Morinda citrifolia* L) produced in northeastern Brazil. *International Food Research Journal* 25(2): 870-875 (April 2018)

NAKASONE, A.K.; BETTIOL, W.; SOUZA, R.M. Efeito de extratos aquosos de matéria orgânica sobre fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, v. 25, p. 330-335, 1999.

OSORIO, P.R.A.; LEÃO, E.U; VELOSO, R.A; MOURÃO, D.S.C; SANTOS, G.R. essential oils for alternative teak rust control. *FLORAM*, vol.25, n2, e20160391, 2018 <http://dx.doi.org/10.1590/2179-8087.039116>

PAPAVIZAS, G.C.; DAVEY, C.B. saprophytic behavior of *rhizoctonia* in soil. **phytopathology** 51:693-699. 1961.

SCHAWN-ESTRADA, K.R.F; STANGARLIN, J.R. Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMERO, R.S. (Eds.) **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. P.125-138.