
Cristina Fernanda Schneider¹,
Marcia de Holanda Nozaki²,
Andréia Piatti³

**EFEITO FUNGITÓXICO DO ÓLEO
ESSENCIAL DE CAPIM LIMÃO SOBRE
*MYCOSPHAERELLA FRAGARIAE***

RESUMO: A mancha das folhas em morangueiro, causada pelo fungo *Mycosphaerella fragariae*, é considerada a principal doença da cultura. A cultura do morango é conhecida por requerer o uso constante de tecnologia para o controle de pragas e doenças e, por isso, procuram-se cada vez mais métodos alternativos no controle de doenças. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o crescimento micelial de *M. fragariae* sob concentrações do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*. Para tanto, foram utilizadas as concentrações de 0,1; 0,25; 0,5; 0,75 e 1% de óleo que foi dissolvido em meio batata-dextrose-ágar (BDA), além da testemunha positiva (somente BDA) e testemunha negativa (oxicloreto de cobre a 0,25%). Verificou-se que todas as concentrações do óleo de *C. citratus* inibiram em 100% o crescimento micelial do fungo não diferindo do fungicida.

PALAVRAS-CHAVE: crescimento micelial, *Cymbopogon citratus*, mancha das folhas, morango.

FUNGITOXIC EFFECT OF LEMONGRASS ESSENTIAL OIL ON
Mycosphaerella fragariae

SUMMARY: The spot on strawberry leaves, caused by *Mycosphaerella fragariae*, is the main disease in the strawberry crops. The strawberry is known to require the constant use of technology to control pests and diseases so, there are continuous researches to find out alternative methods to control diseases. Thus, this study evaluated the mycelial growth of *Mycosphaerella fragariae* under different concentrations of essential oil of *Cymbopogon citratus*.

¹Eng. Agrônoma graduada pela Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Mestranda pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná

²Pontifícia Universidade Católica do Paraná -ProfA. Dra. do Depto. de Agronomia

³Eng. Agrônoma graduada pela Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Concentrations of 0.1; 0.25; 0.5; 0.75 and 1% of oil were used and dissolved in potato-dextrose-agar (PDA). Only PDA and copper oxychloride at 0.25% were used as positive and negative control, respectively. The studied oil concentrations of *C. citratus* were able to inhibit in 100% mycelial growth of this pathogen, showing results similar to the fungicide.

KEY WORDS: Mycelial growth, *Cymbopogon citratus*, leaf spot, strawberry.

INTRODUÇÃO

O mais grave e disseminado problema fitossanitário na cultura do morangueiro é a 'mancha das folhas', causada pelo fungo *Mycosphaerella fragariae*, de ocorrência generalizada e pode ser encontrada em todas as regiões de cultivo. Se não controlada, pode causar perdas significativas na produção, pois reduz a área fotossintética das folhas. A infecção é favorecida durante todas as fases da cultura e as lesões das folhas velhas servem de fonte de inóculo. Temperaturas entre 20-25°C são consideradas ótimas para a infecção e o desenvolvimento de sintomas (KIMATI et al., 2005).

Os peritécios da forma perfeita são escuros, globosos, parcialmente imersos, medem de 100-150 µm de diâmetro e são providos de pequenos ostíolos. As ascas são cilíndricas e clavadas, com 30-40 µm x 10-5 µm e contêm ascósporos hialinos e bicelulares, medindo de 12-15 µm x 3-4 µm. Sua forma imperfeita corresponde à *Ramularia tulasnei* que forma conídios elípticos a cilíndricos, de 20-40 µm x 3-5 µm, hialinos, os quais podem conter até quatro septos. Os conídios desempenham um importante papel na epidemiologia da doença, como fonte de inóculo; sobrevivem por longos períodos em folhas ou outras partes da planta infectada, embora os ascósporos também possam iniciar a infecção. A disseminação dos conídios ocorre principalmente pelos respingos de água da chuva e irrigação, enquanto os ascósporos são disseminados pelo vento (TANAKA et al, 2005).

Inicialmente, na face superior das folhas, são produzidas lesões aprofundadas, avermelhadas, rodeadas por tecido necrótico de contornos irregulares. As manchas aumentam até atingirem 3-6 mm de diâmetro com centro acinzentado ou branco. Os bordos adquirem cor marrom avermelhada intensa. Na face inferior da folha, as lesões são perceptíveis, mas possuem cores menos intensas. Quando há coalescência das manchas formam-se lesões extensas, as quais causam, com frequência, a morte das mesmas. Nos frutos, as lesões são marrons avermelhadas e circulares. Nos demais órgãos, as lesões são alongadas, avermelhadas e deprimidas (DEL PONTE, 2007).

As plantas medicinais e aromáticas, com seus princípios ativos antimicrobianos, tornam-se promissoras para o controle de doenças de plantas (OLIVEIRA et al., 2008). As plantas medicinais possuem em sua composição substâncias que podem exercer funções importantes na interação planta-patógeno, seja ativando os mecanismos de defesa da planta ou atuando como substâncias fungitóxicas à semelhança dos fungicidas sintéticos (VIGO-SCHULTZ et al. 2006)

A utilização de substâncias naturais, de origem vegetal, torna o alimento mais atrativo ao consumidor por não apresentarem efeito tóxico, mesmo quando empregadas em concentrações relativamente altas (PEREIRA et al., 2006).

Os óleos essenciais têm grande importância em pesquisas, pois são potencialmente úteis no controle fitossanitário. Além de defenderem as plantas de bactérias e fungos fitopatogênicos ainda diminuem os efeitos negativos de oxidantes, radicais e microrganismos que causam prejuízos nas indústrias alimentícias (BELÉM, 2003).

Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o desenvolvimento micelial do fungo *Mycosphaerella fragariae* sob a presença do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do isolado

Folhas sintomáticas de morango (*Fragaria x ananassa* Duch.) foram coletadas em uma propriedade do município de Toledo, Paraná, das quais foram retirados pequenos fragmentos do tecido foliar doente com auxílio de lâmina de corte. Posteriormente, os fragmentos de foliares foram submetidos a uma desinfecção prévia em solução de hipoclorito de sódio (3:1) por 3 min, seguida de Álcool 70% por 1 min, visando à remoção de patógenos superficiais. Em seguida, realizou-se a transferência, de forma asséptica, dos fragmentos foliares para placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA).

As placas de Petri foram mantidas em bancada, sob temperatura ambiente ($25 \pm 5^\circ\text{C}$) e luminosidade alternada (12 h luz/12 h escuro).

Bioensaio de crescimento micelial

Para o ensaio de crescimento micelial, o óleo essencial de capim limão foi incorporado ao meio fundente com o auxílio de micropipetas

nas concentrações de 0,1 (100mL); 0,25 (250mL); 0,5 (500mL); 0,75 (750mL) e 1% (1000mL) de óleo para 100 mL de meio de cultivo, os quais foram então transferidos para placas de Petri (9 cm).

Além das concentrações supracitadas, foram ainda avaliadas a testemunha positiva (somente o meio sem adição do óleo) e a testemunha negativa (com fungicida oxicleto de cobre a 0,25g), misturadas a 100 mL de meio BDA. Após o resfriamento do meio de cultivo, foi depositado um disco de 5 mm de diâmetro contendo uma colônia do fungo com 15 dias, no centro de cada placa. As placas foram mantidas sob temperatura ambiente ($25 \pm 5^\circ\text{C}$) e regime de luminosidade alternado (12h claro/12h escuro).

As avaliações foram realizadas diariamente por medição diametricamente oposta do crescimento da colônia do fungo em placa, com auxílio de uma régua graduada (cm). O crescimento foi avaliado até que um dos tratamentos atingisse todo o diâmetro da placa.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com sete tratamentos e cinco repetições cada. Foram determinadas como tratamentos as diferentes concentrações de óleo essencial de capim-limão incorporadas ao meio de cultura (PEREIRA, 2006), além das testemunhas positiva e negativa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito inibitório do crescimento micelial de *M. fragariae* sob concentrações de óleo essencial de *C. citratus* e testemunhas positiva (BDA) e negativa (fungicida), encontram-se representados na Tabela 1.

Tabela 1 Diâmetro de colônias (mm) de *Mycosphaerella fragariae* cultivadas sob efeito do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* em diferentes concentrações

Tratamento	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	144 h	168 h	MÉDIA
0,1%	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
0,25%	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
0,5%	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
0,75%	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
1%	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
BDA	0,25 b	0,21 b	0,39 b	0,52 b	0,64 b	0,76 b	0,86 b	0,51 b
Fungicida	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
Média	0,03	0,03	0,05	0,07	0,09	0,10	0,12	

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si significativamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Observa-se que todos os tratamentos (0,1; 0,25; 0,5; 0,75 e 1%) do óleo essencial apresentaram inibição total do crescimento micelial durante todo o período de avaliação e não diferiram do tratamento com fungicida. Apenas o tratamento BDA permitiu crescimento do fungo. O fungo apresentou rápido desenvolvimento, completando seu crescimento em toda placa e finalizando a avaliação no período de sete dias.

Na Figura 1 é mostrada a análise de regressão, com comportamento linear com relação à variável horas para o crescimento micelial do fungo no tratamento testemunha positiva (BDA), que apresentou diferença estatística significativa no transcorrer das horas.

Resultado semelhante foi observado por Souza Júnior et al. (2009), quando utilizaram o óleo essencial de *C. citratus* nas concentrações de 1, 3, 5 e 10% e também obtiveram 100% de controle do crescimento micelial do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado de folhas de maracujazeiro. Rozwalka (2008), quando utilizou o óleo essencial de *C. citratus*, obteve uma inibição de 100% do crescimento micelial *in vitro* de *C. gloeosporioides* e 62,77% de *Glomerela cingulata*, na concentração de 10 µL/placa do óleo.

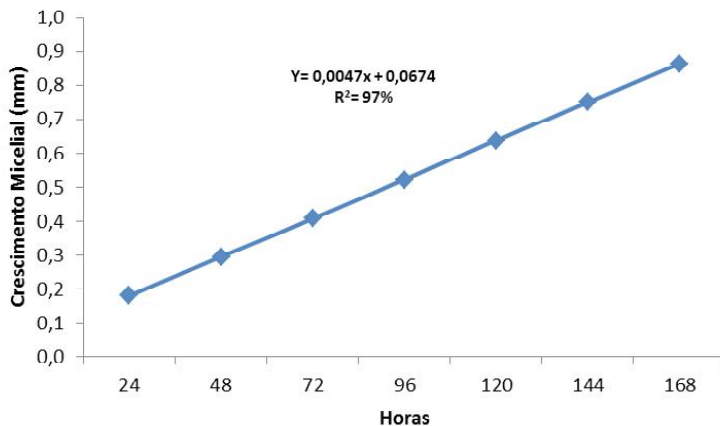


Figura 1 Gráfico de regressão linear do crescimento micelial (mm) de *Mycosphaerella fragariae* no tratamento testemunha positiva (BDA).

A atividade antimicrobiana de *C. citratus* deve-se ao seu componente citral que é o principal responsável por esta atividade (ONAWUNMI et al., 1984 apud SCHUNCK et al., 2001). Schuck et al., (2001) comprovaram tal afirmação ao observarem que os compostos

citral e limoneno do óleo volátil mostraram-se ativos contra vários microrganismos estudados. Os resultados visuais comparativos de controle de crescimento micelial de *Mycosphaerella fragariae* ao término das avaliações podem ser observados na Figura 2, em que se verifica que apenas o meio BDA permitiu desenvolvimento do fungo.

Segundo Stangarlin et al. (1999), o controle de fitopatógenos através da utilização de óleo essencial ocorre tanto por sua ação fungitóxica direta quanto por alterações fisiológicas na planta, como indução de enzimas relacionadas à patogênese e fitolexinas, lignificação da folha, entre outras.

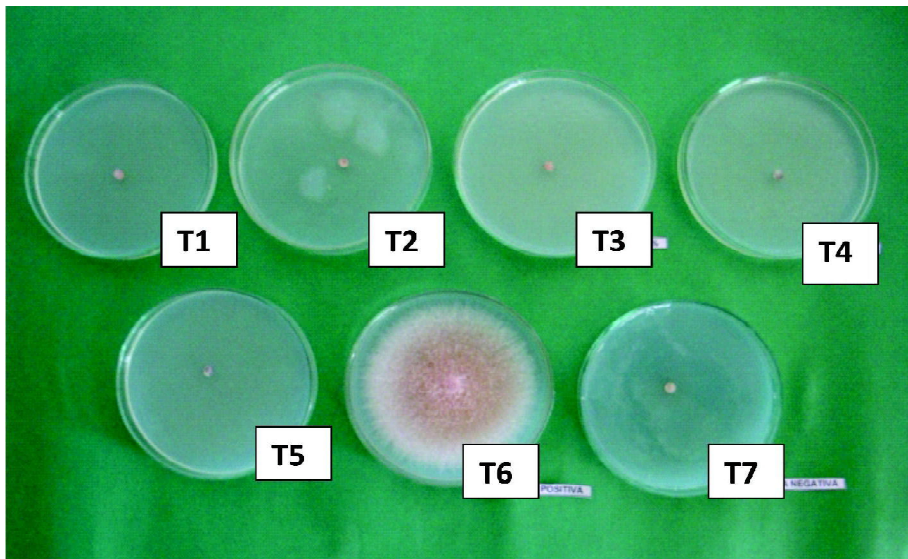


Figura 2 Crescimento micelial de *Mycosphaerella fragariae* submetido a diferentes tratamentos, em que: T1 representa concentração de 0,1% de óleo essencial de *Cymbopogon citratus*; T2 = 0,25% de óleo; T3 = 0,5% de óleo; T4 = 0,75% de óleo; T5 = 1% de óleo; T6 = testemunha positiva (apenas BDA) e T7 = testemunha negativa, com adição de Oxicloreto de cobre (0,25 g/100ml de BDA).

CONCLUSÃO

O óleo essencial de capim-limão apresentou controle *in vitro* significativo de *Mycosphaerella fragariae* nas diferentes concentrações.

REFERÊNCIAS

- BELÉM, L.F.; LIMA, E.O.; BARBOSA FILHO, J.M.; SILVA FILHO, R.N.; LIMA, J.R.; CASIMIRO, G.S. Atividade antifúngica de óleos essenciais "in vitro" contra cepas de *Malassezia furfur*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu; v.6; n.1; p.77-83; 2003.
- DEL PONTE, E.M. (Ed.). 2007. **Fitopatologia.net - herbário virtual**. Departamento de Fitossanidade. Agronomia, UFRGS. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/agronomia/fitossan/herbariovirtual>. Acesso em: 10 de nov. 2008.
- KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de fitopatologia volume 2: Doenças das plantas cultivadas**. 4 ed. Agronômica Ceres.; São Paulo, 2005, 494p.
- OLIVEIRA, O.R.; TERAQ, D.; DE CARVALHO, A.C.P.P.; INNECCO, R.; ALBUQUERQUE, C.C. Efeito de óleos essenciais de plantas do gênero *Lippia* sobre fungos contaminantes encontrados na micropropagação de plantas. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.39, n.1; p.94-100. 2008.
- PEREIRA, M.C.; VILELA, G.R.; COSTA, L.M.A.S.; SILVA, R.F.; FERNANDES, A.F.; FONSECA, E.W.N.; PICCOLI, R.H. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n. 4, p. 731-738, 2006.
- ROZWALKA, L.C. Controle alternativo da antracnose em frutos de goiabeira, em laboratório. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.2, p.301-307, 2008.
- SCHUCK, V.J.A.; FRATINI, M.; RAUBER, C.S.; HENRIQUES, A.; SCHAPOVAL, E.E.S. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Cymbopogon citratus*. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, v.37, n. 1, 2001.
- SOUSA JÚNIOR, I.T.; SALES, N.L.P.; MARTINS, E.R. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. **Revista Biotemas**. Florianópolis, v.22, n.3, p.77-83, 2009.
- STANGARLIN J.R.; SCHWAN-ESTRADA K.R.F.; CRUZ M.E.S.; NOZAKI M.H. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**.v.1, p.16-21, 1999.
- TANAKA, M.A.S.; BETTI, J.A.; KIMATI, H. Doenças do morangueiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Eds.), **Manual de fitopatologia**. São Paulo:

Agronômica Ceres, 2005, p.489-499.

VIGO-SCHULTZ, S.C.; STANGARLIN, J.R.; FRANZENER, G.; PORTZ, R.L.; KUHN, O.J.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Avaliação da eficácia da tintura etanólica de guaco (*Mikania glomerata*) no controle da podridão negra (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) em couve-flor. **Semina: Ciências Agrárias**. Londrina, v.27, n.4, p.515-524, out/dez, 2006.