

**Atividade antifúngica dos óleos essenciais de *Eucalyptus staigeriana* Muell. e *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown. sobre o fungo fitopatogênico *Alternaria solani* (Ellis & G. Martin) L.R. Jones & Grout, causador da pinta preta do tomateiro.**

**Elisa Zorzi<sup>1</sup>; Rute Teresinha da Silva Ribeiro<sup>1</sup>; Gabriel Fernandes Pauletti<sup>1</sup>, Joséli Schwambach<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Universidade de Caxias do Sul - Centro de Ciências Agrárias e Biológicas - Instituto de Biotecnologia - Laboratório de Controle Biológico de Doenças de Plantas. Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130, Bairro Petrópolis, CEP. 95070-560. Caxias do Sul/RS – Brasil. E-mail: elisa\_fzor@hotmail.com; rute.bio@gmail.com; gabriel.pauletti@gmail.com; joselischwambach@gmail.com

**RESUMO**

Compostos produzidos pelo metabolismo secundário das plantas podem ser utilizados para o controle de fitopatógenos devido ao seu baixo impacto ambiental quando comparados aos pesticidas convencionais. Os óleos essenciais fazem parte desses compostos e estão presentes em várias plantas como na espécie *Eucalyptus staigeriana* e na *Lippia alba*, sendo que seus óleos apresentam atividade antibacteriana comprovada. Os óleos essenciais destas plantas foram testados contra o fungo *Alternaria solani*, causador de várias fitopatologias, incluindo a pinta preta do tomateiro, de grande importância econômica. Os óleos essenciais foram extraídos pelo método de hidrodestilação em aparelho Clevenger e ao testar *in vitro* a atividade antifúngica destes contra o fitopatógeno *A. solani*, utilizou-se meio BDA com diluição do óleo essencial de cada espécie testado nas concentrações 0,1; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 µL/mL. Verificou-se que as concentrações 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 µL/mL do óleo essencial de *L. alba* foram capazes de inibir o crescimento do microrganismo durante quatorze dias de inoculação, sendo possível comprovar sua ação fungicida. Já o óleo essencial de *E. staigeriana* teve ação fungicida comprovada nas concentrações 1,0, 1,5 e 2,0 µL/mL, em todo o período de teste.

**Palavras-chave:** tomate, compostos secundários, ação fungicida.

**ABSTRACT**

**Antifungal activity of essential oil of *Eucalyptus staigeriana* Muell. and *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown. on the plant pathogenic fungus *Alternaria solani* (Ellis & G. Martin) L.R. Jones & Grout, which causes early blight.**

Compounds produced by secondary metabolism of plants can be used to control pathogens due to its low environmental impact when compared to conventional pesticides. Essential oils are

among these compounds and they are present in plants as the species *Eucalyptus staigeriana* and *Lippia alba*, their oils have demonstrated antibacterial activity. Essential oils from these plants were tested against the fungus *Alternaria solani* that causes several plant diseases, including early blight in tomato, which has great economic importance. The essential oils were extracted by hydrodistillation method in Clevenger apparatus and, when tested *in vitro* against the phytopathogen *A. solani*, were diluted in PDA at concentrations 0,1; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 µL/mL. It was found that the concentrations 0,5; 1,0; 1,5 and 2,0 µL/mL of the *L. alba* essential oil were able to inhibit the growth of the microorganism for fourteen days after inoculation, proving its fungicidal action. The essential oil of *E. staigeriana* confirmed fungicidal action in the concentrations 1,0, 1,5 e 2,0 µL/mL throughout the test period.

**Keywords:** tomato, secondary compounds, fungicidal action.

## INTRODUÇÃO

O controle de doenças de plantas utilizando produtos químicos, como fungicidas e pesticidas, pode provocar grandes danos ao meio ambiente e a saúde humana, além de levar a seleção de linhagens patogênicas resistentes (KIMATI et al., 1997; ZADOKS, 1992). Para uma proteção contra fitopatógenos, sem impacto ambiental, observa-se um aumento em estudos que utilizam extratos e óleos vegetais com o objetivo de encontrar substâncias inibidoras de crescimento desses microrganismos (BETTIOL, 1991).

A cultura do tomate é disseminada em todo o mundo, sendo uma das hortaliças de maior consumo, devido às suas características nutricionais. Entretanto, o tomateiro é hospedeiro de pelo menos duzentas doenças, entre elas a que mais se destaca é a pinta preta do tomateiro causada por *Alternaria solani* (LOPES & DOS SANTOS, 1994), responsável por acarretar grandes perdas econômicas na cultura do tomate. Esta condição determina o uso de defensivos que podem ser de origem natural, obtidos a partir de óleos essenciais.

A espécie *Eucalyptus staigeriana* tem sua produção estabelecida para extração de óleo essencial, o qual possui o aldeído citral como componente majoritário (BIZZO et al., 2009; VITTI & BRITO, 2003) e com ação antifúngica comprovada. A espécie *L. alba* também produz óleo essencial que possui efeito antifúngico confirmado por Arras e Usai (2001).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar *in vitro* a atividade biológica dos óleos essenciais de *E. staigeriana* e *L. alba*, contra o crescimento do fitopatógeno *A. solani*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O óleo essencial de *E. staigeriana* foi extraído das folhas de plantas localizadas no Instituto de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul no início da tarde do verão de 2011. O óleo

essencial de *L. alba* foi extraído de folhas de plantas do Banco de Germoplasma do Instituto de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul no início da tarde do período de verão. As plantas originais de *L. alba* foram coletadas em Teotônia, no Rio Grande do Sul, e propagadas pelo corte da haste. O material vegetal coletado foi colocado em estufa a 28°C e após seco, sua extração ocorreu pelo método de hidrodestilação em aparelho Clevenger por uma hora. Os isolados fitopatogênicos 003/09 e 011/09 de *A. solani*, foram obtidos da Micoteca do Laboratório de Fitopatologia da Universidade de Caxias do Sul e testados com os óleos essenciais de *E. staigeriana* e *L. alba*, respectivamente. O método utilizado para o teste *in vitro* foi adaptado de Pereira et al. (2006) para avaliar o desenvolvimento ou inibição do microrganismo em diferentes concentrações dos óleos essenciais, que foram diluídos nas concentrações de 0,1; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 µL/mL, com Tween 20 (1:1), em meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Agar) autoclavado e fundente (40°C), preparando-se 100 mL da emulsão para cada concentração, em condições assépticas. Após os meios de cultura serem vertidos em placas de Petri e de sua solidificação, dois discos de 8 mm de diâmetro de ágar colonizados pelo micélio de *A. solani* com sete dias de idade, foram repicados. A incubação foi feita em B.O.D com temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12h, durante 14 dias. No 3°, 7° e 14° dia de desenvolvimento, foram efetuadas medições ortogonais do diâmetro das colônias do fungo, tendo como referência o desenvolvimento da placa controle contendo apenas o fungo desenvolvido sob o meio de cultura, sem adição do óleo essencial. Todos os tratamentos foram repetidos cinco vezes. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ), para cada dia de avaliação.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O óleo essencial de *L. alba* apresentou resultados positivos em todo período de teste, no qual as concentrações 0,5 (5,13 mm de diâmetro da colônia no 14° dia); 1,0; 1,5 e 2,0 µL/mL (0 mm para os demais tratamentos) inibiram totalmente o crescimento fúngico do isolado 011/09, tendo diferenças significativas quando comparadas com o controle (45,72 mm no 14° dia), confirmando sua ação antifúngica (Tabela 1). Na concentração mais baixa, 0,1 µL/mL, o fungo apresentou pouco desenvolvimento no terceiro dia de avaliação, porém no sétimo dia, já apresentava grande crescimento micelial. O óleo essencial de *E. staigeriana* apresentou inibição do crescimento fúngico do isolado 003/09 em todas as concentrações testadas, após três dias da inoculação do patógeno (Tabela 1). Porém, com o passar do tempo, sua ação antifúngica diminuiu nas concentrações mais baixas, sendo que na concentração 0,1 µL/mL houve grande desenvolvimento micelial (21,54 mm), após sete dias. A concentração 0,5 µL/mL também reduziu seu efeito neste período (16,5 mm). Já as concentrações mais altas testadas, 1,0, 1,5 e 2,0 µL/mL, inibiram completamente o crescimento fúngico durante todo período de teste (0 mm no 14° dia), sendo significativamente diferentes do

controle (30,86 mm no 14º dia). Através do teste de contra-prova foi possível avaliar a ação fungicida dos óleos essenciais, onde os discos miceliais do patógeno não crescidos foram retirados das placas contendo BDA+óleo essencial, colocadas em placas contendo somente meio BDA e deixadas em estufas B.O.D. Após sete dias, não ocorreu crescimento fúngico, confirmando efeito fungicida. Neste trabalho constatamos que o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* e *Lippia alba* apresentam atividade fungicida capaz de inibir o crescimento *in vitro* do fungo *Alternaria solani*, causador da pinta preta do tomateiro. Em razão dos resultados apresentados, os óleos de *E. staigeriana* e *L.alba* deverão ser melhor avaliados através de estudos subseqüentes para possível desenvolvimento de um produto natural para serem utilizados no combate a pinta preta de tomateiro no campo.

Tabela 1. Efeito dos óleos essenciais de *Eucalyptus staigeriana* e *Lippia alba* no diâmetro de crescimento micelial de *Alternaria solani*.

<i>Eucalyptus staigeriana</i> X <i>Alternaria solani</i> 003/09							<i>Lippia alba</i> X <i>Alternaria solani</i> 11/09					
Concentração (µL/mL)	0	0,1	0,5	1,0	1,5	2,0	0	0,1	0,5	1,0	1,5	2,0
3º dia	25,03 <sup>A</sup>	14,34 <sup>B</sup>	0 <sup>C</sup>	0 <sup>C</sup>	0 <sup>C</sup>	0 <sup>C</sup>	30,98 <sup>A</sup>	10,1 <sup>B</sup>	0 <sup>C</sup>	0 <sup>C</sup>	0 <sup>C</sup>	0 <sup>C</sup>
7º dia	29,83 <sup>a</sup>	21,54 <sup>a</sup>	16,5 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	45,24 <sup>a</sup>	39,58 <sup>a</sup>	1,88 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>
14º dia	30,86 <sup>a</sup>	23,21 <sup>a</sup>	22,28 <sup>b</sup>	0 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>	45,72 <sup>a</sup>	45,28 <sup>a</sup>	5,13 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>

Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey (P≤0,05).

## LITERATURA CITADA

- ARRAS, G; USAI, M. 2001. Fungitoxic activity of 12 oils against four postharvest citrus pathogens: Chemical analysis of Thymus capitatus oil and its effect in subatmospheric pressure conditions. *Journal of Food Protection* 64: 1025- 1029.
- BETTIOL, W. 1991. *Controle biológico de doenças de plantas*. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA.
- BIZZO, HR; HOVELL, AMC; REZENDE, CM. 2009. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. *Química Nova* 32: 588-594.
- KIMATI, H; GIMENEZ-FERNANDEZ, N; SOAVE, J; KUROSZAWA, C; BRIGNANI NETO, F; BETTIOL, W. 1997. Guia de Fungicidas Agrícolas – Recomendações por Cultura. V.1. Jaboticabal: Grupo Paulista de Fitopatologia. 225p.
- LOPES, CA; DOS SANTOS, JRM. 1994. Doenças do tomateiro. Brasília: Embrapa. 67p.
- PEREIRA, MC; VILELA, GR; COSTA, LMAS; DA SILVA, RF; FERNANDES, AF; FONSECA, EWN; PICCOLI, RH. 2006. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais em condimentos. *Ciênc. Agrotec.* 30: 731-738.
- VITTI, MAS; BRITO, JO. 2003. Óleo essencial de eucalipto. Documentos Florestais, n.17, USP.
- ZADOKS, JC. 1992. The cost of change in plant protection. *Journal of Plant Protection* 9: 151-159.