

Diversidade Microbiana da Amazônia

Vol. 3

ORGANIZADORES

LUIZ ANTONIO DE OLIVEIRA, JULIANA GOMES DE SOUZA OLIVEIRA,
LUADIR GASPAROTTO, MARIA APARECIDA DE JESUS, LILIANE COELHO DA ROCHA,
JANIA LILIA DA SILVA BENTES, LARISSA DE SOUZA KIRSCH, SUANNI LEMOS DE ANDRADE



PRESIDENTE DA REPÚBLICA
Jair Messias Bolsonaro

MINISTRO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO
Marcos César Pontes

DIRETORA DO INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA
Antonia Maria Ramos Franco Pereira

Diversidade Microbiana da Amazônia

Vol. 3

ORGANIZADORES

LUIZ ANTONIO DE OLIVEIRA, JULIANA GOMES DE SOUZA OLIVEIRA,
LUADIR GASPAROTTO, MARIA APARECIDA DE JESUS, LILIANE COELHO DA ROCHA,
JANIA LILIA DA SILVA BENTES, LARISSA DE SOUZA KIRSCH, SUANNI LEMOS DE ANDRADE



Manaus
2019

Copyright © 2019, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

Capa

Tito Fernandes e Rodrigo Verçosa

Projeto gráfico e editoração eletrônica

Rodrigo Verçosa

EDITORA INPA

Editor-chefe

Mario Cohn-Haft.

Produção editorial

Rodrigo Verçosa, Shirley Ribeiro Cavalcante, Tito Fernandes

FICHA CATALOGRÁFICA

D618 Diversidade microbiana da Amazônia / Organizador Luiz Antonio de Oliveira... [et.al].--

Manaus: Editora INPA, 2019.

35 mb, v. 3: il. color.

ISBN 978-65-5633-000-6

1. Microbiologia - Amazônia. 2. Diversidade. I. Oliveira, L. A.

CDD 576.9811



Editora do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

Av. André Araújo, 2936, Petrópolis

Cep : 69067-375 Manaus – AM, Brasil

Tel : 55 (92) 3643-3223

www.inpa.gov.br e-mail: editora@inpa.gov.br

Fungitoxicidade de óleos essenciais de *Piper* spp. sobre *Colletotrichum theobromicola*

Samara da Silva Oliveira¹, Rogério Eiji Hanada¹, Francisco Célio Maia Chaves²,
Gleisson de Oliveira Nascimento³, Luiz Alberto Guimarães de Assis¹,
Sabrina Silva de Oliveira¹, Marcelo Róseo Oliveira²

¹ Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

² Embrapa Amazônia Ocidental

³ Universidade Federal do Acre

Emails: agroufac174@gmail.com, rhanada.inpa@gmail.com, celio.chaves@embrapa.com,
gleissonnascimento582@gmail.com, luizlab1@hotmail.com, sabrina_ufac@hotmail.com,
marceloroseo@embrapa.br.

Resumo

Os óleos essenciais são alternativas promissoras para o manejo de doença de plantas devido sua reconhecida atividade antimicrobiana. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito fungitóxico de óleos essenciais de *Piper aduncum*, *P. hispidinervum*, *P. hispidum*, *P. marginatum* e *P. callosum* no controle alternativo a *Colletotrichum theobromicola* agente causal da antracnose da cebolinha (*Allium fistulosum*). Discos de 0,7 cm de diâmetro do fungo *C. theobromicola* foram depositados individualmente no centro das placas de Petri contendo meio de cultura BDA e óleos essenciais nas respectivas concentrações 0%, 0,03%, 0,1%, 0,2%, 0,5% e 1%. Após 30 dias de incubação, avaliou-se a esporulação fúngica sob o efeito das diferentes concentrações dos óleos essenciais. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizados em esquema fatorial (5 x 6), com óleos essenciais de cinco espécies vegetais e seis concentrações e cinco repetições. Os dados foram submetidos à análise de regressão linear ao nível de 5% de significância. Foi constatado que os óleos essenciais de todas as espécies estudadas apresentaram atividade antifúngica frente à *C. theobromicola*. No entanto, apenas nas espécies *P. marginatum* e *P. callosum* na concentração 1% houve total inibição do patógeno. Quanto à esporulação, na concentração 1% de óleo essencial das espécies *P. callosum*, *P. marginatum*, *P. hispidinervum* e *P. aduncum* houve total inibição. Enquanto que o óleo essencial de *P. hispidum* estimulou a produção de esporos de *C. theobromicola*. Os resultados obtidos nesse estudo comprovam que os óleos essenciais de *Piper* spp. é uma alternativa promissora para o controle da antracnose em cebolinha.

Palavra-chave: Controle alternativo, Piperaceae, *C. theobromicola*.

Introdução

A cebolinha (*Allium fistulosum* L.) é infectada por diversos patógenos que ocasionam prejuízos aos produtores. Dentre os agentes causadores de doenças na cebolinha destaca-se o *Colletotrichum theobromicola* (Delacroix), agente causal da antracnose (Matos *et al.*, 2017). Não há fungicidas registrados para essa cultura e uma das possíveis justificativas é a sua exploração em pequenas áreas (AGROFIT, 2018). O uso de agrotóxicos neste hospedeiro seria considerado problemático, pois a planta apresenta ciclo curto e os resíduos dos produtos podem permanecer nas folhas comercializáveis (Araújo *et al.*, 2012). O uso de produtos naturais é considerado fonte segura no controle alternativo de doenças em plantas e compatível com esse patossistema.

Os óleos essenciais são considerados fungicidas naturais com potencial por suas reconhecidas propriedades antimicrobianas, pois as substâncias bioativas encontradas nas plantas causam inibição do crescimento de fungos, inibição de esporulação e germinação de conídios, além de reduzir lesões causadas por fitopatógenos (Chiejina e Ukeh, 2012; Ramos *et al.*, 2016). Dentre as grandes famílias botânicas produtoras de óleos essenciais, as Piperaceae merecem destaque. O gênero *Piper*, o maior da família Piperáceae, é conhecido por ser rico em óleos essenciais e algumas espécies desse gênero, como *Piper*

aduncum, *Piper hispidinervum*, *Piper hispidum*, *Piper callosum* e *Piper marginatum* são ricas em óleos essenciais que apresentam atividade antifúngica.

Na agricultura, estas espécies podem ser usadas como inseticidas naturais, bem como fungicidas naturais como descrito por Bastos e Albuquerque (2004). Assim, devido à baixa toxicidade, por serem biodegradáveis, somado à ampla aceitação pelo público, os óleos essenciais podem ser usados como alternativa promissora aos fungicidas.

Diante do exposto, o presente trabalho foi conduzido com objetivo de avaliar a atividade antifúngica de óleos essenciais de *P. aduncum*, *P. hispidinervum*, *P. hispidum*, *P. marginatum* e *P. callosum* sobre o crescimento micelial e produção de esporos de *C. theobromicola*, agente causador da antracnose da cebolinha.

Material e Métodos

Os trabalhos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA e no Laboratório de Plantas Medicinais e Fotoquímica da Embrapa Amazônia Ocidental, onde os óleos essenciais foram extraídos por aparelho tipo Clevenger.

As soluções de óleos foram preparadas nas concentrações de 1%, 0,5%, 0,2%, 0,1% e 0,03%, as quais foram incorporadas em meio BDA (batata-dextrose-ágar) fundente e vertidos 15 mL em placas de Petri. Após a solidificação, discos de micélio (7 mm de diâmetro) do isolado *C. theobromicola* foram depositados no centro das placas. Posteriormente foram mantidas em câmara de crescimento a 25 °C, com fotoperíodo de 12 h. A partir do segundo dia após a repicagem, foram realizadas avaliações a cada 24 h, até cobertura total do tratamento controle na borda da placa de Petri. O crescimento micelial foi obtido pela medida do diâmetro das colônias em dois sentidos perpendiculares, com o auxílio de um escalímetro. Com os dados obtidos, foi determinado o percentual de inibição do crescimento micelial (PIC), utilizando a fórmula proposta por Bastos (1997).

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, esquema fatorial (5 x 6), sendo cinco espécies de Piperaceae (*P. aduncum*, *P. marginatum*, *P. callosum*, *P. hispidum*, *P. hispidinervum*) e seis concentrações dos respectivos óleos essenciais com 5 repetições, onde cada placa de Petri constituiu uma unidade experimental. Os dados foram submetidos à análise de regressão linear ao nível de 5% de significância para verificar a influência das concentrações de óleos essenciais sobre o crescimento micelial e esporulação fúngica.

A avaliação da esporulação fúngica realizou-se 30 dias após a repicagem. Para tanto, 10 mL de água destilada foi acrescentada sobre as colônias nas placas de Petri. Posteriormente, com uma lâmina de microscópio, realizou-se uma raspagem superficial do meio de cultura e a suspensão foi filtrada em gaze, com o auxílio de um funil de vidro e recolhida em um béquer. A contagem do número de esporos procedeu-se em câmara de Neubauer.

Resultados e Discussão

Todos os óleos essenciais testados, independente das concentrações, apresentaram atividade inibitória sobre o crescimento micelial de *C. theobromicola*. No entanto, apenas os óleos das espécies *P. marginatum* e *P. callosum* na concentração 1% inibiram totalmente o crescimento micelial do patógeno (Figura 1).

No tratamento controle, o crescimento micelial apresentou diâmetros da colônia fúngica superior a oito cm de diâmetro, enquanto que os tratamentos com as respectivas concentrações, o crescimento micelial atingiu quatro centímetros na concentração de 0,2% e 2,5 cm nas concentrações acima de 0,5% e 0,8% dos óleos essenciais. Na Figura 1, observa-se que o crescimento micelial de *C. theobromicola* decresce em resposta ao aumento das concentrações dos óleos essenciais de *Piper* spp. ($p < 0,05$).

As pesquisas realizadas por Bastos e Albuquerque (2004) corroboram com o presente trabalho. Esses autores verificaram que o óleo essencial de *P. aduncum* na concentração acima de 100 µg.mL⁻¹ inibiu em 100% tanto o crescimento micelial quanto a germinação de conídios de *C. musae* e reduziu 100%

a severidade e intensidade da antracnose em banana prata na concentração de 1,0% do óleo essencial, tendo o mesmo efeito fungitóxico que o fungicida benomil.

O óleo essencial de *P. aduncum* apresentou atividade antifúngica sobre *Moniliophora perniciosa*, agente causador da vassoura-de-bruxa no cupuaçuzeiro nas quatro concentrações testadas (0,25; 0,50; 0,75; 1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), inibindo totalmente o crescimento micelial do fungo (Rocha *et al.*, 2013).

A ação fungicida ou fungistática dos óleos essenciais de *Piper* spp. pode estar relacionada com os constituintes químicos encontrados nos respectivos óleos ou devido à atuação dos compostos que atuam de maneira sinérgica ou antagonista. Na Tabela 1 verifica-se a porcentagem de inibição do crescimento micelial, com valores de 7,5% de inibição de *C. theobromicola* na concentração 0,03% do óleo de *P. hispidum*, até valores de 56,2% de inibição com óleo de *P. aduncum*. Constatou-se que da concentração 0,2% até 1% houve inibição acima de 50% do patógeno, exceto para a espécie *P. hispidum* e 100% de inibição do crescimento foi verificado na concentração de 1% utilizando óleo essencial de *P. callosum* e *P. marginatum*.

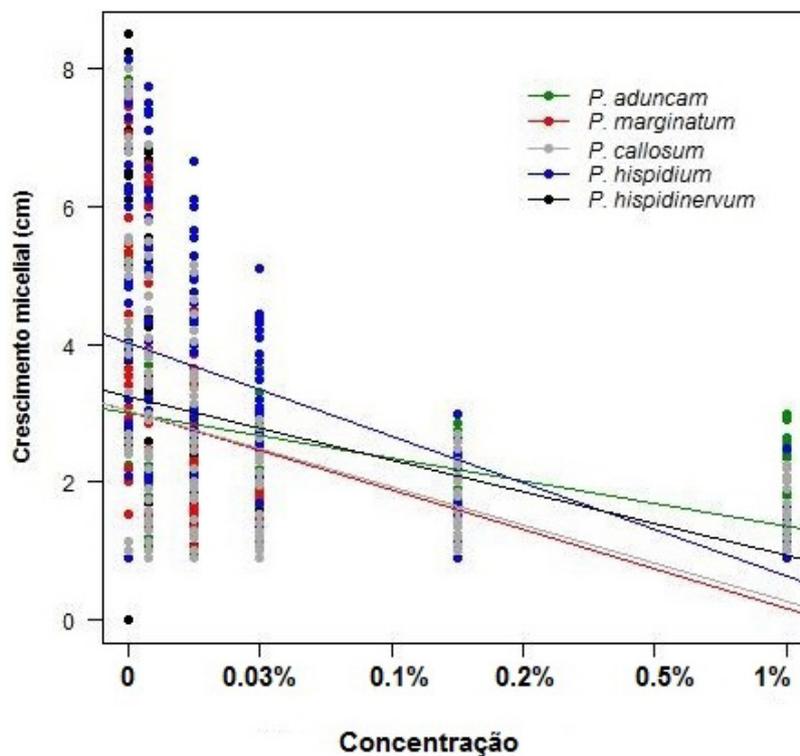


Figura 1. Crescimento micelial de *Colletotrichum theobromicola* na presença de diferentes concentrações de óleos essenciais de *Piper* spp.

Tabela 1. Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *C. theobromicola* frente às diferentes concentrações de óleos essenciais.

Espécies	Porcentagem de Inibição do Crescimento Micelial de <i>Colletotrichum theobromicola</i>					
	Concentrações					
	0%	0,03%	0,1%	0,2%	0,5%	1%
<i>Piper hispidum</i>	0	7,5	20,0	45,0	66,7	76,2
<i>P. marginatum</i>	0	18,7	62,5	83,7	88,7	100,0
<i>P. callosum</i>	0	22,5	48,0	77,9	83,8	100,0
<i>P. hispidinervum</i>	0	31,2	46,2	68,7	68,7	75,0
<i>P. aduncum</i>	0	56,2	62,5	62,5	66,2	66,2

O aumento da concentração do óleo essencial proporcionou redução na esporulação do fungo, exceto com o óleo essencial de *P. hispidum*. Os óleos essenciais de *Piper callosum*, *P. marginatum*, *P. hispidinervum* e *P. aduncum*, na concentração de 1%, inibiram 100% a esporulação de *C. theobromicola*, enquanto que o óleo essencial de *P. hispidum* estimulou a produção de esporos de *C. theobromicola* (Figura 2).

Flaishman e Kolattukudy (1994) relatam que a germinação de conídios de alguns fungos fitopatogênicos pode ser estimulada pela combinação de certos constituintes do óleo essencial. Isso se deve ao mecanismo desenvolvido por alguns fungos patogênicos que utilizam os metabólitos secundários como um sinal para iniciar a germinação, formação de apressórios e infecção.

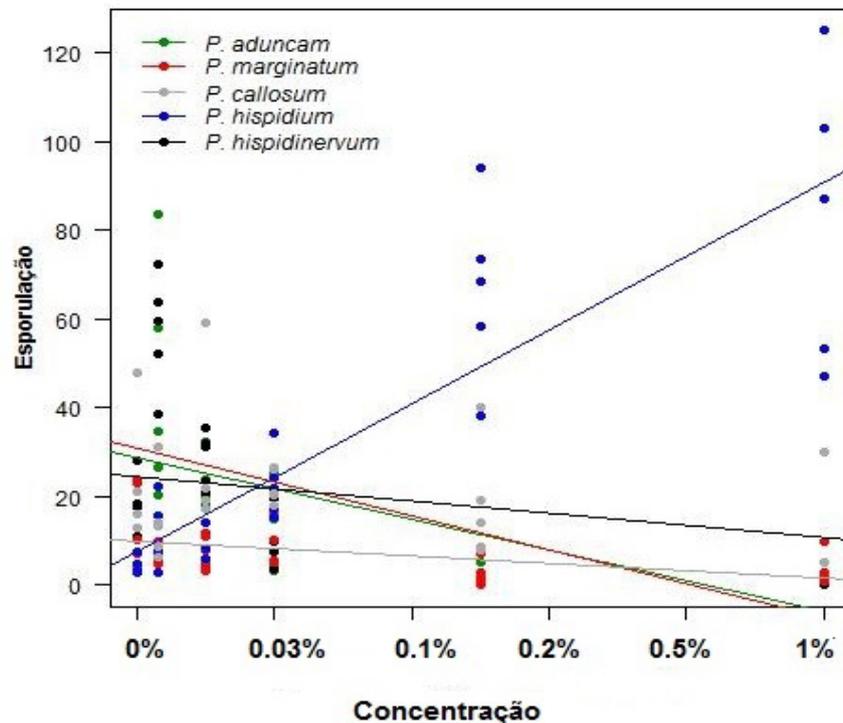


Figura 2. Esporulação fúngica de *Colletotrichum theobromicola* após 30 dias de incubação.

Conclusões

Óleos essenciais de *Piper marginatum* e *P. callosum* inibiram em até 100% o crescimento micelial de *Colletotrichum theobromicola*.

Os óleos essenciais *P. aduncum*, *P. hispidinervum*, *P. marginatum* e *P. callosum* consideradas neste estudo reduziram a produção de esporos de *C. theobromicola* e *P. hispidum* estimulou a produção de esporos.

Portanto, espécies do gênero *Piper* são consideradas potenciais para o controle de agentes fitopatogênicos que acometem culturas de interesse econômico.

Referências

- AGROFIT 2018. (www.agricultura.gov.br). Acesso 4/06/2018.
- Araújo IB, Luiz AM, Stadnik MJ 2012. Efeito do extrato de alga e de argila silicatada na severidade da Alternariose e na produtividade da cebolinha comum (*Allium fistulosum* L.). *Tropical Plant Pathology*, 37: 363-367.
- Bastos CN, Albuquerque PSB 2004. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. *Fitopatologia Brasileira*, 29: 555-557.
- Bastos CN. 1997. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipelis pernicioso* e outros fungos fitopatogênicos. *Fitopatologia Brasileira*, 22:441.

- Chiejina NV, Ukeh JA 2012. Antimicrobial properties and phytochemical analysis of methanolic extracts of *Aframomum melegueta* and *Zingiber officinale* on fungal diseases of tomato fruit. *Journal of Natural Sciences Research*, 2:10-15.
- Flaishman MA, Kolattukudy PE 1994. Timing of fungal invasion using hosts ripening hormones as a signal. *Proceedings of the National Academy of Science of the United State of America*, 91:6579–6583.
- Matos KS, Santana KFA, Catarino AM, Hanada RE 2017. First report of antracnose on welsh onion (*Allium fistulosum*) in Brazil caused by *Colletotrichum theobromicola* and *C. truncatun*. *Plant Disease*, 101: 1055.
- Ramos K, Andreani Júnior R, Kozusny-Andreani DI 2016. Óleos essenciais e vegetais no controle in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 18: 605-612.
- Rocha SIB, Majolo C, Souza MG, Chaves FCM 2013. Atividade antifúngica do óleo essencial de *Piper aduncum* por bioautografia indireta no controle de *Moniliophthora perniciosa*. Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus-AM.
- Ramos K, Andreani Júnior R, Kozusny-Andreani DI 2016. Óleos essenciais e vegetais no controle in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 18: 605-612.
- Rocha SIB, Majolo C, Souza MG, Chaves FCM 2013. Atividade antifúngica do óleo essencial de *Piper aduncum* por bioautografia indireta no controle de *Moniliophthora perniciosa*. Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus-AM.