

Anais da IX Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Occidental



ISSN 1517-3135

Dezembro, 2012

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Ocidental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 100

Anais da IX Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Occidental

*Ronaldo Ribeiro Morais
Cheila de Lima Boijink
Kátia Emidio da Silva
Regina Caetano Quisen*

Embrapa Amazônia Occidental
Manaus, AM
2012

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Amazônia Ocidental

Rodovia AM 010, Km 29, Estrada Manaus/Itacoatiara

Caixa Postal 319

Fone: (92) 3303-7800

Fax: (92) 3303-7820

www.cpaa.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Celso Paulo de Azevedo*

Secretária: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Membros: *Edsandra Campos Chagas, Jeferson Luis Vasconcelos de Macêdo, Jony Koji Dairiki, José Clério Rezende Pereira, Kátia Emídio da Silva, Lucinda Carneiro Garcia, Maria Augusta Abtibol Brito, Maria Perpétua Beleza Pereira, Rogério Perin, Ronaldo Ribeiro de Moraes e Sara de Almeida Rios.*

Revisor de texto: *Maria Perpétua Beleza Pereira*

Normalização bibliográfica: *Maria Augusta Abtibol Brito*

Diagramação: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Capa: *Lúcio Rogerio Bastos Cavalcanti*

1ª edição

1ª impressão (2012): 300

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.

Embrapa Amazônia Ocidental.

Morais, Ronaldo Ribeiro et al.

Anais da IX Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental / (editado por) Regina Caetano Quisen et al.

- Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2012.

320 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos; 100).

ISSN 1517-3135

1. Pesquisa. 2. Ciência. I. Título. II. Série.

CDD 501

Atividade Antifúngica de Óleos Essenciais no Controle de *Moniliophthora perniciosa*

Ingrid Brambilla

Maria Geralda de Souza

Olívia de A. Cordeiro

Aparecida das G. Claret de Souza

Francisco Célio M. Chaves

Marcelo R. de Oliveira

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antifúngica dos óleos essenciais de *Piper aduncum* L. e *Lippia sidoides* Cham., sobre a inibição da germinação de basidiósporos e do crescimento micelial do fungo *Moniliophthora perniciosa*, causador da doença vassoura-de-bruxa do cupuaçuzeiro. Para a avaliação in vitro, os tratamentos foram constituídos dos óleos nas concentrações de 0; 0,25; 0,5; 0,75 e 1,0 $\mu\text{L}/\text{mL}$, e para efeito de comparação utilizaram-se os fungicidas azoxystrobin e tebuconazole nas concentrações de 2 $\mu\text{L}/\text{mL}$ e 4 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Após os testes com as concentrações entre 0,25 $\mu\text{L}/\text{mL}$ e 1,0 $\mu\text{L}/\text{mL}$, avaliaram-se concentrações dos óleos essenciais entre 0,25 $\mu\text{L}/\text{mL}$ e 0,5 $\mu\text{L}/\text{mL}$, a fim de determinar a concentração mínima inibitória. Para o teste de inibição da germinação de basidiósporos, alíquotas dos óleos foram incorporadas ao meio de ágar-água (AA) 2% fundente, em seguida depositaram-se 30 μL de suspensão de 106 basidiósporos/mL. Quanto ao crescimento micelial, testaram-se duas metodologias. Na primeira, alíquotas dos óleos foram incorporadas ao meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) 2% fundente, de modo a se obter as concentrações desejadas, em seguida discos de micélio do fungo foram adicionados no centro de cada placa.

Na segunda metodologia, a de disco difusão, utilizaram-se discos de papel de filtro de 6 mm, embebidos em solução de óleo essencial e tween 80, em seguida estes foram dispostos nas placas contendo o meio BDA e discos de micélio do fungo. O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro repetições por tratamento. Os resultados obtidos demonstraram que os dois óleos apresentaram 100% de inibição da germinação de basidiósporos, nas concentrações de 0,5; 0,75 e 1,0 $\mu\text{L/mL}$, sendo 0,30 $\mu\text{L/mL}$ a concentração mínima inibitória. Referente ao crescimento micelial, o óleo de *P. aduncum* mostrou-se mais efetivo na concentração de 0,5 $\mu\text{L/mL}$ e 1,0 $\mu\text{L/mL}$, enquanto o óleo *L. sidoides* apresentou inibição na concentração de 0,75 $\mu\text{L/mL}$, quando usada para ambos os óleos a metodologia BDA fundente. Com relação à metodologia de disco difusão, o óleo de *P. aduncum* mostrou-se mais efetivo nas concentrações de 0,5; 0,75 e 1,0 $\mu\text{L/mL}$, e óleo *L. sidoides* nas concentrações de 0,75 $\mu\text{L/mL}$ e 1,0 $\mu\text{L/mL}$. Verificou-se que nenhuma concentração abaixo de 0,5 μL apresentou inibição total do crescimento micelial do fungo.

Palavras-chave: cupuaçuzeiro, *Moniliophthora perniciosa*, óleo essencial, atividade antifúngica.

Introdução

A doença vassoura-de-bruxa, causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*, é a principal doença da espécie *Theobroma grandiflorum* (Willd. Ex Spreng.) Schum.), o cupuaçuzeiro. O fungo infecta os tecidos meristemáticos da planta, causando vários sintomas, entre eles: superbrotamento de lançamentos foliares, com proliferação de gemas laterais, e engrossamento de tecidos infectados em crescimento. Atualmente, pesquisas vêm sendo realizadas a fim de encontrar métodos alternativos para o controle da doença (BASTOS, 2007). Vários trabalhos desenvolvidos com extratos e óleos essenciais de plantas apresentam grandes perspectivas de controle de fitopatógenos.

Alguns autores demonstram efeitos inibitórios de óleos essenciais sobre diversos fungos (BASTOS, 2007; BENINI et al., 2010; SANTOS et al., 2011; SOUZA JÚNIOR et al., 2009; PEREIRA et al., 2008).

Estima-se que grande parte da flora brasileira ainda não foi estudada quanto ao potencial antifúngico que as plantas possam apresentar, visando assim à descoberta de novos compostos químicos capazes de controlar o desenvolvimento de fitopatógenos (STANGARLIN et al., 1999).

O objetivo deste trabalho foi avaliar, *in vitro*, a ação inibitória dos óleos essenciais de *P. aduncum* e *Lippia sidoides* sobre o crescimento micelial e a germinação de basidiósporos de *M. perniciososa*.

Material e Métodos

Para o teste de inibição da germinação de basidiósporos e do crescimento micelial do fungo, utilizaram-se os óleos essenciais nas concentrações de 0; 0,25; 0,5; 0,75 e 1,0 $\mu\text{L/mL}$, e para efeito de comparação utilizaram-se os fungicidas azoxystrobin e tebuconazole nas concentrações de 2 $\mu\text{L/mL}$ e 4 $\mu\text{L/mL}$. Após os testes com as concentrações entre 0,25 $\mu\text{L/mL}$ e 1,0 $\mu\text{L/mL}$, avaliaram-se concentrações dos óleos essenciais entre 0,25 $\mu\text{L/mL}$ a 0,5 $\mu\text{L/mL}$, a fim de determinar a concentração mínima inibitória. Para o teste de inibição da germinação de basidiósporos, alíquotas dos óleos essenciais foram incorporadas ao meio de ágar-água (AA) 2% fundente, de modo a se obter as concentrações desejadas. Após a solidificação do meio de cultura, depositaram-se 30 μL de suspensão de 10⁶ basidiósporos/mL. Em seguida as placas foram incubadas em câmara de crescimento (BOD), com ausência de luz e temperatura controlada em 25 °C por 24 horas. O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro repetições para cada tratamento. A avaliação foi feita pelo percentual de germinação dos basidiósporos ao microscópio de luz.

Para a avaliação da inibição do crescimento micelial, testaram-se duas metodologias. A primeira consistiu na incorporação de alíquotas dos óleos essenciais, no meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) 2% fundente, de modo a se obter as concentrações desejadas; após a solidificação do meio, discos de 6 mm de diâmetro contendo o micélio do fungo foram adicionados no centro de cada placa. A segunda foi a de disco de difusão, na qual se utilizaram discos de papel de filtro de 6 mm de diâmetro, embebidos em solução de óleo essencial e tween 80, em seguida estes foram dispostos nas placas contendo o meio BDA, e discos de micélio do fungo. Em seguida as placas foram acondicionadas em BOD a 25 °C, no escuro, para incubação. A avaliação foi realizada quando as colônias fúngicas das placas testemunhas cobriram toda a superfície do meio de cultura.

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos demonstraram que a ação dos óleos essenciais sobre a inibição da germinação de basidiósporos foi mais eficaz nas concentrações de 0,5; 0,75 e 1,0 $\mu\text{L}/\text{mL}$, com resultados próximos à ação inibitória dos fungicidas azoxystrobin e tebuconazole nas concentrações 2 μL e 4 μL , que foram incluídos como testemunhas positivas (Figura 1). Os resultados corroboram com trabalhos realizados com o óleo essencial de *P. aduncum*, em que se observou a ação inibitória contra grande número de fitopatógenos, inclusive sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici* (SILVA e BASTOS, 2007; BASTOS, 2007). Verificou-se que, a partir da concentração mínima de 0,30 $\mu\text{L}/\text{mL}$, os óleos de *P. aduncum* e *L. sidoides* apresentaram inibição total da germinação de basidiósporos do fungo. O óleo essencial de *L. sidoides* apresenta grande atividade contra microrganismos, como *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus flavus* e *Cryptococcus neoformans* e os fungos *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizopus* sp. (LEMONS et al., 1990; PESSOA et al., 1996). Quanto ao crescimento micelial, para a ocorrência de 100% de inibição do crescimento de

M. pernicioso, o óleo de *P. aduncum* mostrou-se mais efetivo na concentração de 0,5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ e 1,0 $\mu\text{L}/\text{mL}$, enquanto o óleo *L. sidoides* apresentou inibição na concentração de 0,75 $\mu\text{L}/\text{mL}$, quando usada para ambos a metodologia de adição do óleo ao meio BDA fundente (Figura 2). Com relação à metodologia de disco difusão, o óleo de *P. aduncum* nas concentrações de 0,5; 0,75 e 1,0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ apresentou 100% de inibição do fungo, enquanto o óleo *L. sidoides* apresentou inibição de 100%, nas concentrações de 0,75 $\mu\text{L}/\text{mL}$ e 1 $\mu\text{L}/\text{mL}$ (Figura 3). Constatou-se que nenhuma concentração abaixo de 0,5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ apresentou inibição total do crescimento micelial do fungo. Os óleos essenciais de *P. aduncum* e *L. sidoides* apresentaram atividade antifúngica sobre o fungo *M. pernicioso*.

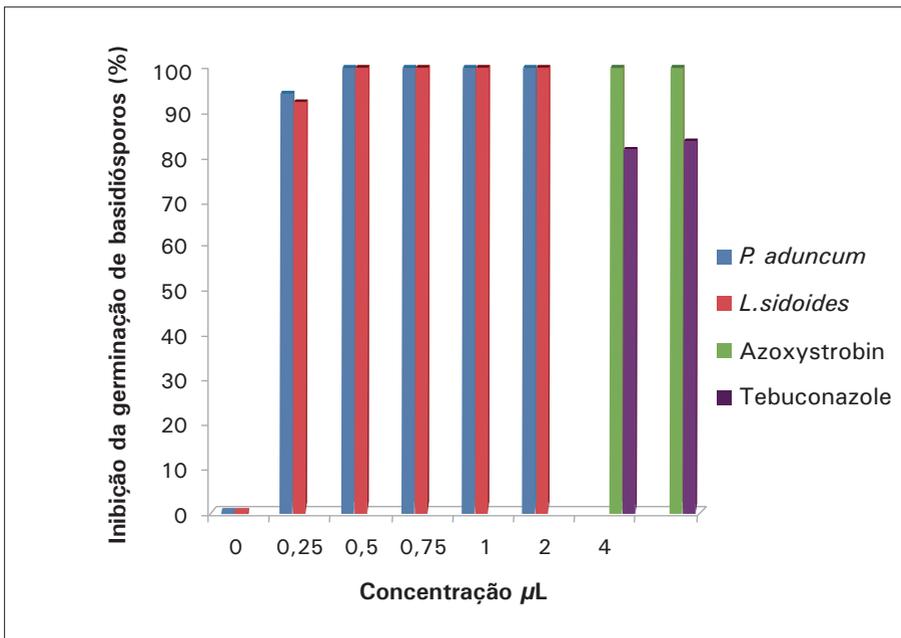


Figura 1. Efeito de concentrações dos óleos essenciais *P. aduncum* e *L. sidoides* na inibição da germinação de basidiósporos de *M. pernicioso*, in vitro, após 24h de incubação.

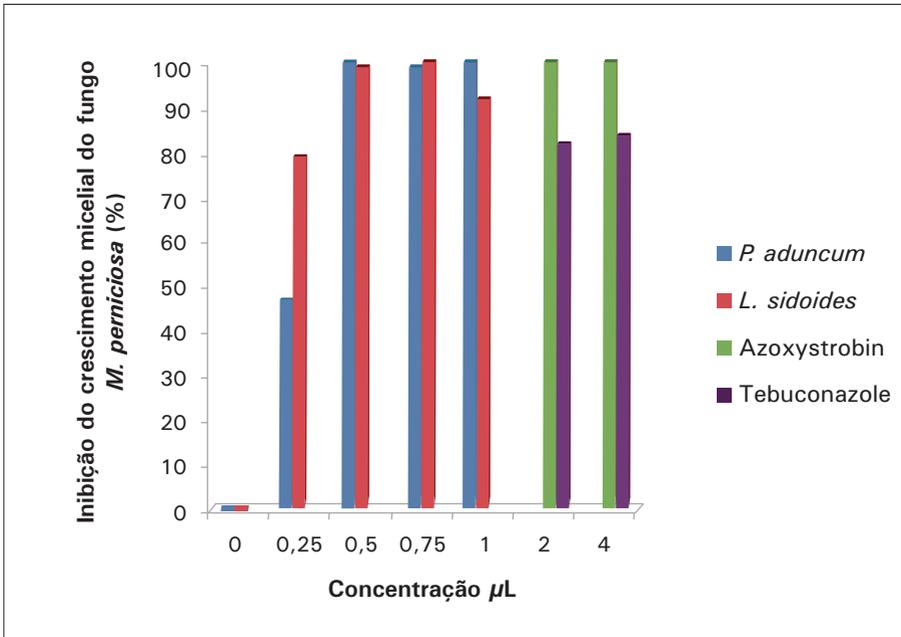


Figura 2. Efeito da concentração inibitória dos óleos essenciais de *P. aduncum* e *L. sidoides* no crescimento micelial de *M. perniciosa*, metodologia BDA fundente.

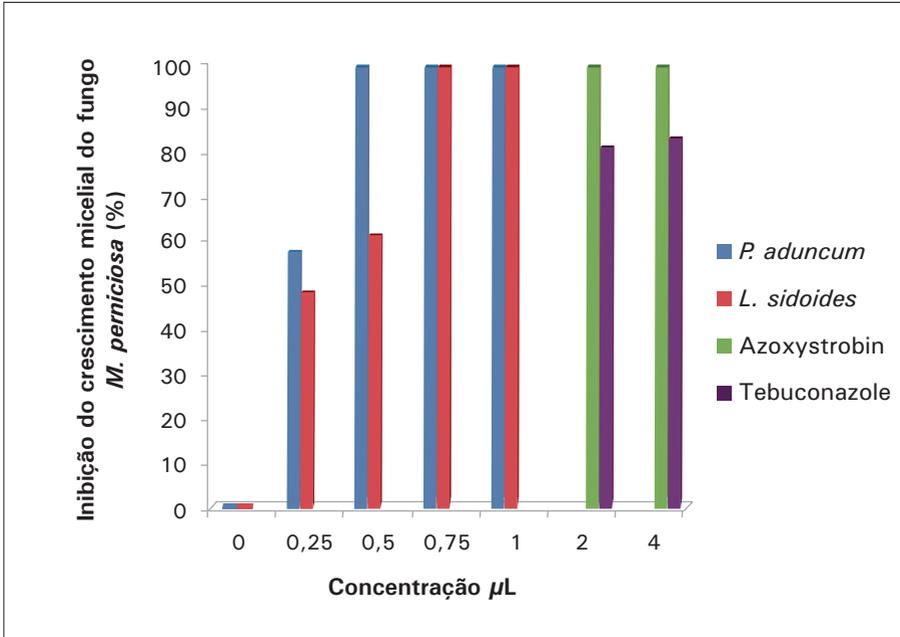


Figura 3. Efeito de concentração inibitória dos óleos essenciais de *P. aduncum* e *L. sidoides* no crescimento micelial de *M. perniciosa*, metodologia disco difusão.

Conclusões

Os resultados encontrados são promissores, indicando um incentivo para a continuação desses estudos como forma alternativa de controle no manejo integrado da doença, podendo contribuir para solucionar sérios problemas na cultura do cupuaçu.

Agradecimentos

Ao CNPq, à Embrapa, à equipe do laboratório de plantas medicinais e aos técnicos do laboratório de fitopatologia Antônio Salomão, Ricardo Rebello e Karina Bichara.

Referências

- BASTOS, C. N. Fungitoxidade in vitro e ação curativa de óleos essenciais contra *Crinipellis perniciosa*. **Revista Ciências Agrárias**, Belém, n. 47, p. 137-148, 2007.
- BENINI, P. C.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; KLAIS, E. C.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; MESQUINI, R. M.; STANGARLIN, J. R.; TOLENTINO-JÚNIOR, J. B. Efeito in vitro do óleo essencial de extrato aquoso *Oocimum gratissimum* colhido nas quatro estações do ano sobre fitopatógenos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 4, p. 677-683, 2010.
- LEMOS, T. L. G.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; CRAVERO, A. A.; CLARK, A. M.; McCHESNEY, J. D. Antimicrobial activity of essential oils of brasilian plants. *Phytoterapy Research*, Chichester, v. 4, n. 2, p. 82-84, 1990.
- PESSOA, M. N. G.; OLIVEIRA, J. C. M.; INNECCO, R. Efeito da tintura de alecrim-pimenta contra fungos fitopatogênicos in vitro. **Fitopatologia Brasileira, Brasília**, DF, v. 21, ago. 1996. Suplemento. Trabalho apresentado no 29o. Congresso Brasileiro de Fitopatologia.

PEREIRA, R. B.; ALVES, E.; RIBEIRO JUNIOR, P. M.; RESENDE, M. L. V.;
de; LUCAS, G. C.; FERREIRA, J. B. Extrato de casca de café, óleo
essencial de tomilho e acibenzolar-S-metil no manejo da cercosporiose.

**Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, DF, v. 43, p. 1287-1296,
2008.**

SANTOS, M. R. A.; LIMA, R. A.; FERNANDES, C. F.; SILVA, A. G.;
FACUNDO, V. A. Antifungal activity of *Piper marginatum* L.

(Piperaceae) essential oil in vitro *Fusarium oxysporum* (SCHECHT).

Revista Saúde e Pesquisa, v. 4, n. 1, p. 9-17, 2011.

SILVA, D. M. H.; BASTOS, C. N. Atividade antifúngica de óleos
essenciais de espécies de *Piper* sobre *Crinipellis perniciosa*,

Phytophthora palmivora e *Phytophthora capsici*. **Fitopatologia Brasileira,**
v. 32, p. 143-145. 2007.

SOUZA JÚNIOR, I. T.; SALES, N. L. P.; MARTINS, E. R. Efeito

fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*,

Isolado do maracujazeiro amarelo. **Revista Biotemas, 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. **Biociência & Desenvolvimento, v. 11, p. 16-
21. 1999.**