

**AÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Origanum vulgare* e *Rosmarinus officinalis*
NO CRESCIMENTO MICELIAL E NA ESPORULAÇÃO DE *Stemphylium sp.*
ISOLADO DE *Allium cepa***

**BRUNO BONILHA DIAS¹; RENATA MOCCELLIN²; ROSARIA HELENA
MACHADO AZAMBUJA²; MARLETE BRUM CLEFF²; ROGÉRIO ANTONIO
FREITAG²; CÂNDIDA RENATA FARIAS JACOBSEN³**

¹Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel - UFPEL – brunobonilha7@gmail.com

²Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel - UFPEL – renatamoccellin@gmail.com

²Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel - UFPEL – rosariahmz@terra.com.br

³Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel - UFPEL – jacobsencandida@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A cebola (*Allium cepa* L.) é uma cultura de significativo destaque econômico, sendo o Brasil o oitavo maior produtor dessa hortaliça, contribuindo com 2% da produção mundial (FAO, 2013). O Rio Grande do Sul é o terceiro maior produtor de cebola dentro do país, respondendo por 35% da produção total (IBGE, 2013).

A mancha púrpura é a doença fúngica de maior importância para a cultura da cebola, sendo causada pelo agente etiológico *Stemphylium* sp. O principal sintoma da doença ocorre nas folhas que se apresentam escurecidas, progredindo para danos no sistema vascular comprometendo a produção (Wordell Filho, 2006).

O controle dessa doença é baseado praticamente no uso de fungicidas, entretanto tratamentos alternativos estão se tornando uma nova vertente, devido à procura do consumidor por produtos livres de agrotóxicos e que sejam sustentáveis. Uma dessas alternativas é o uso de óleos essenciais, produzidos a partir de plantas medicinais e aromáticas (STANGARLIN, 2007). Estes óleos são constituídos de hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples, cetonas, fenóis, dentre outros que possuem capacidade fungistática e fungicida (SIMÕES; SPITIZER, 2000). Trabalhos tem mostrado que o uso de alecrim, diminuíram o crescimento micelial e a produção de esporos de *Botrytis cinerea* (LORENZETTI et, al., 2011). O uso de óleo de orégano também mostrou-se eficiente na inibição do desenvolvimento de *B. cinerea* (SOYLU et., al 2010).

Dante do exposto, objetivou-se com esse trabalho avaliar a ação de diferentes concentrações dos óleos essenciais de orégano e alecrim no crescimento micelial e na esporulação de *Stemphylium* sp.

2. METODOLOGIA

O isolado de *Stemphylium* sp. utilizado neste trabalho pertence ao Laboratório de Patologia de Semente e Fungos Fitopatogênicos (LPSFF), local em que o trabalho foi conduzido. Os óleos essenciais foram extraídos no Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos-CCQFA, através da técnica de extração por arraste de vapor em Clevenger. O delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial, em que os fatores correspondem aos extratos utilizados: orégano e alecrim; e as diferentes concentrações dos extratos: 0; 0,2%; 0,4%; 0,6%; 0,8% e 1,0%, com quatro repetições. As diluições para cada óleo essencial partiram de uma solução estoque a 5% do óleo puro. O volume de óleo calculado

para cada concentração foi adicionado ao volume do meio de cultura totalizando o volume de 50 mL.

Em placas de Petri foram colocadas 10 mL de meio de cultura + óleo essencial ou fungicida, e no centro destas foram depositados um disco de micélio (5 mm) do fungo *Stemphylium* sp. O teste foi acompanhado de um controle negativo com fungicida recomendado para o controle do patógeno. As placas foram acondicionadas em sala de crescimento, 24°C com fotoperíodo de 12h.

A avaliação do crescimento micelial consistiu na mensuração do tamanho das colônias, com um paquímetro digital, a partir da constatação do crescimento na testemunha. A avaliação foi realizada diariamente, até o oitavo dia, quando também foi realizado a contagem de esporos das colônias.

A contagem foi realizada pelo método de raspagem nas placas. O micélio obtido foi diluído em 10mL de água destilada. A contagem dos esporos foi realizada em câmara de Neubauer (400x).

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância, constatando-se significância estatística os efeitos dos óleos foram comparados pelo teste t ($p \leq 0,05$). Os efeitos das concentrações foram avaliados por modelos de regressão ($p \leq 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se que entre os fatores avaliados ocorreu interação significativa tanto para IVCM como para esporulação (p -valor $< 0,0001$), para ambos os óleos utilizados, mostrando que estes foram efetivos na inibição do desenvolvido do *Stemphylium* sp. (Tabela 1).

Tabela 1 – Índice de velocidade do crescimento micelial e esporulação do *Stemphylium* sp., para os óleos essenciais de alecrim e orégano nas concentrações utilizadas.

Concentração	IVCM (mm/dia)		Espirulação (esporos/mL)	
	Alecrim	Orégano	Alecrim	Orégano
0	48,01 ^{ns}	45,14	83,43 ^{ns}	83,43
0,2	54,31*	0	20,93*	0
0,4	32,34*	0	92,50*	0
0,6	34,14*	0	49,06*	0
0,8	23,48*	0	14,21*	0
1,0	4,01 ^{ns}	0	0 ^{ns}	0
C.V. (%)	20,72		11,03	

Médias * e ^{ns} significativa e não significativa, respectivamente, pelo teste t ($p \leq 0,05$) comparando os óleos essenciais dentro de cada concentração.

O óleo essencial de orégano foi efetivo em todas as concentrações utilizadas, não sendo possível avaliar a esporulação do fungo. No entanto o uso do óleo essencial do alecrim, reduziu o desenvolvimento do fungo a partir da concentração de 0,4%, sendo gradativo até a última concentração utilizada (Figura 1).

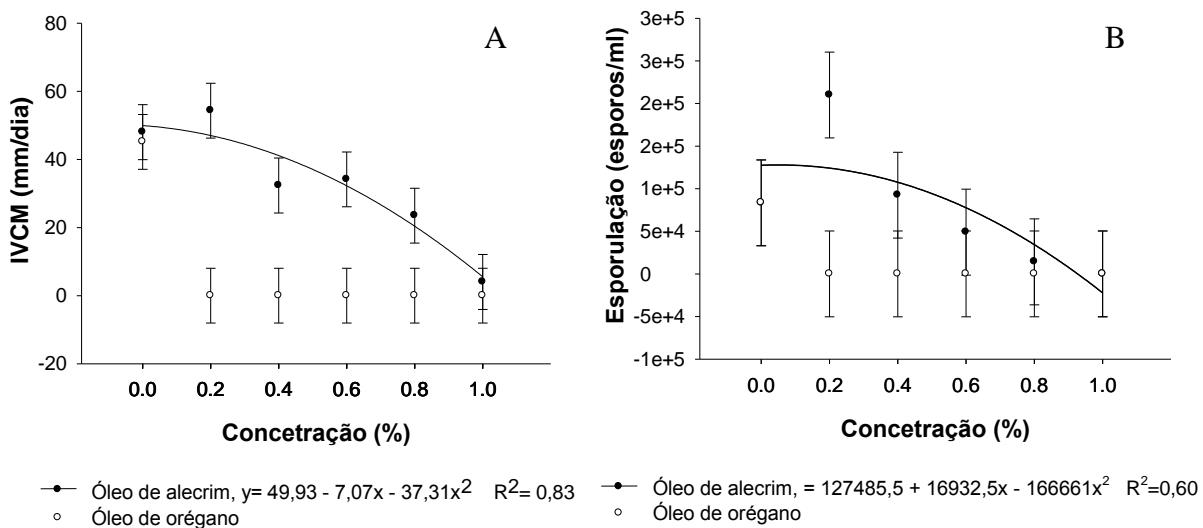


Figura 1 – Índice de velocidade do crescimento micelial (A) e esporulação (B) do *Stemphylium* sp. em função das diferentes óleos essenciais aplicadas ao longo das concentrações utilizadas. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%.

Essa redução no IVCM e na esporulação do fungo pode estar relacionado aos compostos majoritários, produzidos pelo orégano e o alecrim, α -terpineol e α -pineno, respectivamente, que possuem características antifúngicas (CHAMI et al., 2004). Essas plantas fazem parte da mesma família botânica, Lamiaeae, e como pode ser observado não apresentaram a mesma efetividade no controle do *Stemphylium* sp. Esse fato pode ser observado por Soylu et al. (2010) em que o óleo de orégano foi mais eficiente no controle *B. cinerea* em morango.

A esporulação do fungo também foi reduzida, com o uso do óleo de alecrim, que corrobora com dados apresentados por Lorenzetti et al. (2011), em que observaram redução de 80% na produção de esporos de *B. cinerea*. Esses mesmo autores observaram uma redução na germinação dos esporos, quando utilizados óleo de alecrim e de orégano, fator importante para o controle do patógeno.

Esses óleos mostram-se eficazes, também, na inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, patógeno prejudicial para as folhas de maracujá amarelo (JUNIOR et al., 2009). Os autores observaram que utilizando-se doses alternadas dos óleos a controle era mais efetivo.

Esses resultados são positivos, uma vez que ao ser comparado com o controle com o fungicida, o controle com os óleos foram efetivos, se equivalendo ao uso do controle químico principalmente em relação ao uso do orégano em que inibiu completamente o desenvolvimento do fungo (dados não mostrados).

4. CONCLUSÕES

Por meio da efetividade do uso desses óleos essenciais no controle do *Stemphylium* sp. os próximos passos para verificar a eficiência dos óleos são encontrar a concentração mínima a ser utilizado para o óleo de oregano, e fazer trabalhos a campo a para comprovar o efeito do controle.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHAMI, N.; CHAMI, F.; BENNIS, S. et al. Antifungal Treatment With Carvacrol and Eugenol of Oral Candidiasis in Immunosuppressed Rats. *Braz. J. Infect. Dis.*, v.8, p.217-226, 2004.

FAO – Organização das Nações Unidas- Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 2013. Acessado em 20 jul. 2016. Online. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/018/i3107e/i3107e.PDF>

IBGE. Banco de Dados Agregados. São Paulo, 13, jul, 2013. Acessado em 20 jul. 2016. Online. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp?z=t&o=11&i=P>

JÚNIOR, I. T. S., Sales, N. L. P., & Martins, E. R. (2009). Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. *Biотemas*, 22(3), 77-83.. Disponível em: <<https://periodicos.ufsc.br/index.php/biotemas/article/view/2175-7925.2009v22n3p77/17918>>. Acesso em: 20 jul. 2016. doi:<http://dx.doi.org/10.5007/2175-7925.2009v22n3p77>.

LORENZETTI, E.R.; MONTEIRO, F.P.; SOUZA, P.E.; SOUZA, R.J.; SCALICE, H.K.; DIOGO JR, R.; PIRES, M.S.O. Bioatividade de óleos essenciais no controle de *Botrytis cinerea* isolado de morangueiro. *Rev. Bras. Pl. Med.*, v.13, p.619-627, 2011.

PEREIRA, M.C.; et al. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. *Ciênc. agrotec.* [online]. 2006, vol.30, n.4, pp.731-738. ISSN 1413-7054. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542006000400020>.

PORTE, A., & Godoy, R. L. D. O. (2001). Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L): propriedades antimicrobiana e química do óleo essencial. *Bol. Centro Pesqui. Process. Aliment*, 19(2), 193-210.

SIMÕES, CM de O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. **SIMÕES, CMO; SCHENKEL, EP; GOSMANN, G.; MELLO, JCP**, p. 467-495, 2000.

SOYLU, E.M.; KURT, S.; SOYLU, S. In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. *International Journal of Food Microbiology*, v.143, p. 183-9, 2010.

STANGARLIN, J. R.; Uso de extratos e óleos essenciais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32 suplemento, p. 94– 6, 2007.

WORDELL FILHO, J.A.; ROWE, E.; GONÇALVES, P.A. de S.; DEBARBA, J.F.; BOFF, P.; THOMAZELLI, L.F. **Manejo fitossanitário na cultura da cebola**. Florianópolis: Epagri, 2006. 226p.