

USO DE ÓLEO *ARTEMISIA VULGARIS* NO CONTROLE IN VITRO DE *FUSARIUM GRAMINEARUM*

ALICE BEATRIZ PEÑA MEDINA¹; MARIO PINEL ALVAREZ²; KELLYN ANDINO
LÓPEZ²; GUIDO AGUILERA VILLALBA²; GUSTAVO SESSA FIALHO²;
CÂNDIDA JACOBSEN DE FARIAS³

¹Universidade Federal de Pelotas - ecilabeatriz@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas - maritopinel9@yahoo.com, joselyn_032@yahoo.com,
guidoaguilera@hotmail.es, gsfialho@hotmail.com

³Cândida Jacobsen de Farias – jacobsencandida@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O *Fusarium graminearum* é o agente causal da doença giberela ou fusariose da espiga, causa prejuízos econômicos em níveis epidêmicos em vários países do mundo como também na região sul do Brasil (DEL PONTE et al., 2004; REIS et al., 1995), onde se cultivam trigo e milho e as condições climáticas são favorecidas, com chuvas prolongadas e temperatura mais elevada no período de floração da cultura (REIS & CASA, 2007), produzindo danos quantitativos na produtividade do plantio e qualitativos na produção de micotoxinas (ABRUNHOSA et al., 2012; GARCIA JÚNIOR, 2006).

Durante o ciclo da doença esse fungo necrotrófico desenvolve estruturas reprodutivas com dois estágios tanto telomorfo (*Giberela zea*) como anamorfo (*Fusarium graminearum*). A principal fonte de inóculo são restos culturais de plantas hospedeiras e não hospedeiras, garantindo assim a sobrevivência do patógeno, e tornando-se mais difícil seu controle por meio da rotação de cultura (AGRIOS, 2005).

O controle químico com fungicidas resulta um método bastante versátil e acessível; mas o excesso de aplicação, representam riscos para a saúde humana além do aumento da poluição ambiental e degradação do solo (MONAHIM et al., 2011; RUBIO et al., 2008) e como resultado o aparecimento de patógenos altamente resistentes aos produtos aplicados causando uma maior incidência de doenças fúngicas (AGRIOS, 2005). Na ausência de cultivares de resistência completa à giberela (BAI & SHANER, 2004). Uma medida de manejo ou proteção integrada combinando o uso de biocontrole e fungicidas em cultivares com múltiplos genes de resistência, constitui-se um desenvolvimento sustentável para diminuir o impacto da doença (DEL PONTE et al., 2004).

Estudos na literatura demonstram que diversos antifúngicos de atividade biológica de metabolitos secundários são encontrados em produtos naturais como extratos e óleos essenciais de vegetais, consistindo uma alternativa sustentável para o controle do gênero *Fusarium* (MARTINEZ et al., 2014; SREENIVASA et al., 2011; NAEINI et al., 2010). Diante disso o uso de óleos *Origanum vulgare* ssp e *Artemisia* spp. têm sido citados como inibidores de crescimento micelial por seu amplo conteúdo de compostos fenólicos e álcoois monoterpênicos (KALEMBA et al. 2002; FERREIRA, 2012; VELLUTI et al., 2004). Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de óleo essencial (OE) *Artemisia vulgaris* como alternativa de controle in vitro em *F. graminearum*.

2. METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no Laboratório de Patologia de Sementes e Fungos Fitopatogênicos (LPSFF) do Departamento de Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão de Leão. O isolado de *F. graminearum* foi obtida da coleção in vitro do LPSFF, sendo preservado em meio BDA (batata, dextrose e agar) a -5°C, e reativados cinco dias antes das instalações do ensaio.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) em arranjo unifatorial (1x6) para quantificar as variáveis índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) e diâmetro médio do crescimento micelial (DMCM), sendo um OE em seis concentrações de artemísia (0%; 0,25%; 0,5%; 1,0%; 1,5% e 2,0%), com seis repetições, cada uma constituída por uma placa de Petri.

A avaliação foi realizada diariamente e terminou quando o crescimento micelial do fungo do meio testemunha atingiu o diâmetro total das placas. Com auxílio de um paquímetro, mediram-se, os diâmetros (cm) das colônias de cada placa de Petri em dois sentidos perpendiculares entre si, tomando-se como valor de crescimento a média das duas medidas.

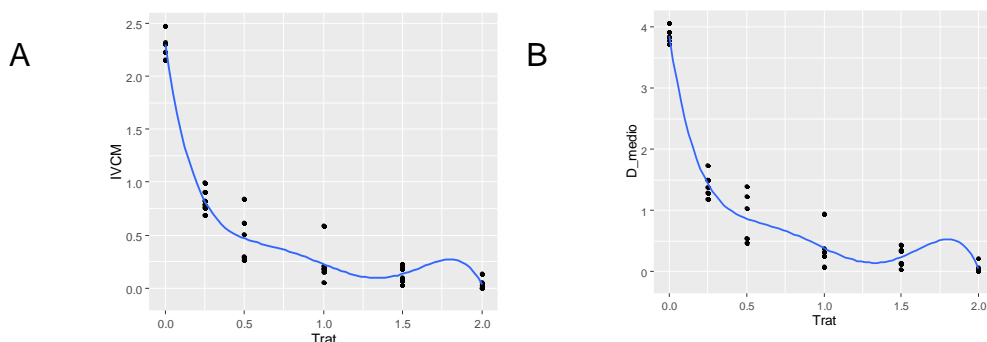
As variáveis medidas foram: o IVCM, obtido a partir das médias dos valores diários de crescimento micelial de cada tratamento, conforme a fórmula descrita por Oliveira (1991): $IVCM = \sum (D - D_a) / N$, sendo: D= diâmetro médio atual da colônia, D_a = diâmetro médio da colônia do dia anterior e N= número de dias após a inoculação; e o diâmetro médio do crescimento micelial (DMCM), obtido através das medidas diárias do crescimento em diâmetro (cm) da colônia do patógeno.

A distribuição normal dos dados das variáveis testadas foi analisada pelo teste de *Shapiro Wilk*. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e regressão. No fator qualitativo, as médias foram comparadas pelo teste de *Tukey* ($p \leq 0,05$), e no fator quantitativo foram ajustadas equações de regressão com base no teste “t” dos coeficientes ($p \leq 0,05$) e no coeficiente de determinação (R^2), utilizando-se o programa estatístico R.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As variáveis IVCM e DMCM foram significativas ($p < 0,05$); portanto, o uso de OE *Artemisia vulgaris* apresentou variação entre os tratamentos testados à medida que se aumentaram as concentrações de óleo no período de 5 dias, ocorrendo menor crescimento da colônia de *F. graminearum* e maior controle acima de 1%. Desta forma detectou-se o efeito de interação significativa ($p < 0,05$), e ajustaram-se equações de regressão aos níveis do fator concentração de OE artemisia (Figura 1). Os resultados de artemisia demonstram que o aumento de concentração do óleo possibilita a inibição do crescimento micelial do fungo, consistindo que os produtos alternativos antes de ser aplicados para o controle de fitopatógenos são previamente testados em ensaios in vitro.

A atividade antifúngica do OEs extraídos de espécies vegetais sobre patógenos amplamente destruídos em quase toda parte do mundo por exemplo o *F. graminearum*. O OE artemisa mostraram efeitos positivos na redução linear do IVCM e do DMCM a medida que foi incrementado a concentração.



IVCM $Y = 2,29666 - 10,02951 x + 21,67148 x^2 - 23,05749 x^3 + 11,46641 x^4 - 2,12159 x^5$;
 $R^2=0,9683$

DMCM $Y = 3,85920 - 16,86255 x + 37,70513 x^2 - 41,51576 x^3 + 21,19339 x^4 - 3,99598 x^5$;
 $R^2=0,9690$

Figura. 1 – As variáveis: (A) índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), e (B) diâmetro médio do crescimento micelial (DMCM), sendo um OE em seis concentrações de artemisia (0%; 0,25%; 0,5%; 1,0%; 1,5% e 2,0%).

Trabalhos conduzidos por WANG et al. (2010) com OE de *Ficus sarmentosa* no controle *F. graminearum* a trigo (cuja doença é giberela da espiga), observaram uma excelente atividade inibitória do mesmo, o OE possui metabólitos secundários tais como eriodictiol, homoeriodictiol dihidroquercetina e luoteolina. Também o *Origanum vulgare* e outros Oes têm resposta a três espécies do gênero *Fusarium* (*F. verticillioides*, *F. proliferatum* e *F. graminearum*) com efeito fungistático (VELLUTI et al., 2004). Alta inibição do *Fusarium solani* f. sp. *Melongenae* com extratos de *Azardiachta indica*, *Artemisia annua*, *Eucalyptus globulus* e outros vegetais (JOSEPH et al., 2008). Em *Fusarium oxysporum* o extrato *Allium sativum* (alho etanólico) foi o melhor com quase 95% de atividade fungicida (ALKAHIL, 2005).

FRIAS & KOZUSNY-ANDREANI (2010), encontraram resultados similares na concentração que usou 0,5% de óleo de eucalipto apresenta atividade antifúngica no dermatófito, mas no extrato de romã, citronela e eucalipto na concentração 8%, 4% e 5%, respectivamente. Em estudos desenvolvidos por NASCIMENTO et al. (2013), os extratos aquosos de calêndula, hortelã, arruda e melão, na concentração 10000 mg L⁻¹, inibiram o crescimento de *Cercospora calandulae*.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que a utilização alternativa de óleo essencial (OE) *Artemisia vulgaris* apresentou um resultado promissor no controle in vitro de *Fusarium graminearum*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRUNHOSA, L. et al. Micotoxinas detectadas en productos alimenticios en Portugal: revisión. **Rev. Bio Ciencias**, v. 2, n. 1, p. 5-31, 2012.
- AGRIOS, G. **Plant Pathology**. 5ed. Nueva York. Elsevier Academic Press. 922 p, 2005.
- ALKHAIL, A. A. Antifungal activity of some extracts against some plant pathogenic fungi. **Pak. J. Biol. Sci**, v. 8, n. 3, p. 413-417, 2005.
- BAI, G.; SHANER, G. Management and Resistance in Wheat and Barley to *Fusarium* head blight. **Annual Review of Phytopathology**, v.42, p.135-161,2004.

- DEL PONTE, E. M. et al. **Giberela do trigo – aspectos epidemiológicos e modelos de previsão**. Fitopatologia Brasileira, v. 28, p. 587-605, 2004.
- FERREIRA, M.C.L. **Polissacarídeos solúveis de folhas de *Artemisia absinthium* e *Artemisia vulgaris*: isolamento, caracterização e efeitos sobre células THP-1**. 2012.136 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Paraná.
- FRIAS, D.F.R.; KOZUSNY-ANDREANI, D.I. Avaliação in vitro da atividade antifúngica de extratos de plantas e óleo de eucalipto sobre Trichophyton mentagrophytes. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.11, n.2, p.216-220, 2009.
- GARCIA JÚNIOR, D. ***Fusarium graminearum* em sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.): detecção, efeitos e controle**. 2006. 78 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.
- JOSEPH, B. et al. Bioefficacy of plant extracts to control *Fusarium solani* f.sp. *melongenae* incitant of brinjal wilt. **Global J. Biotech. & Biochem.**, v.3, n.2, p.56-59, 2008.
- KALEMBA, D. et al. Antimicrobial properties of the essential oil of *Artemisia asiatica* Nakai. **Phytotherapy Research**. v.16, p. 288–291, 2002.
- MONAIM, A M. F. et al. Effectiveness of plant extracts on suppression of damping-off and wilt diseases of lupine (*Lupinus termis* Forsik). **Crop protection**, v. 30, n. 2, p. 185-191, 2011.
- NASCIMENTO, J. M. et al. Inibição do crescimento micelial de *Cercospora calendulae* Sacc. por extratos de plantas medicinais. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.15, n.4, p.751-756, 2013.
- NAEINI, A. et al. R. Assessment of growth-inhibiting effect of some plant essential oils on different *Fusarium* isolates. **Journal of Mycologie Médicale**, v. 20, n. 3, p. 174-178, 2010.
- OLIVEIRA, J. A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativas* L.) e pimentão (*Capsicum annanum* L.)**. 1991. 111 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Escola Superior de Agricultura de Lavras.
- RUBIO, R. G. et al. Resistencia in vitro de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* a los fungicidas Benzomil 500, Rhizolex-T y Homai-WP. **Revista Biológica de la Universidad de Trujillo**, v. 28, n. 2, p. 34-46, 2008.
- REIS, E. M. et al. Doenças do trigo. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Ceres, 1995. v. 2, cap. 66, p. 725-735.
- REIS, E. M.; CASA, R. T. Doenças dos Cereais de inverno: Diagnose, Epidemiologia e controle. 2. Ed. Ver. Atual. Lages: Graphel, 2007. 176 p.: Il. Color.
- SREENIVASA, M. Y. et al. Assessment of the growth inhibiting effect of some plant essential oils on different *Fusarium* species isolated from sorghum and maize grains. **Journal of Plant diseases and Protection**, v. 118, n. 6, p. 208-213, 2011.
- VELLUTI, A. et al. Initial screening for inhibitory activity of essential oils on growth of *Fusarium verticillioides*, *F. proliferatum* and *F. graminearum* on maize-based agar media. **Food microbiology**, v. 21, n. 6, p. 649-656, 2004.
- WANG, X. G. et al. Antifungal Flavonoids from *Ficus sarmentosa* var. *henryi* (King) Corner. **Agricultural Sciences in China**, v.9, n.5, p. 690-694, 2010.