

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEO E EXTRATOS VEGETAIS SOBRE *Sclerotinia sclerotiorum*

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF VEGETABLE OILS AND EXTRACTS AGAINST *Sclerotinia sclerotiorum*

Riccelly Ávila GARCIA¹; Fernando Cezar JULIATTI²; Kássia Aparecida Garcia BARBOSA³; Thales Alves CASSEMIRO⁴

1. Núcleo de Pesquisas em Fitopatologia, Universidade Federal de Goiás - UFG, Goiânia, GO, Brasil. riccellyavila@yahoo.com.br; 2. Professor, Doutor, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil; 3. Laboratório de Nematologia, Universidade Federal de Goiás - UFG, Goiânia, GO, Brasil; 4. Engenheiro Agrônomo.

RESUMO: Considerando a importância do mofo branco, causado pelo patógeno *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja (*Glycine max*) e a falta de estudos sobre alternativas de controle deste patógeno, este trabalho teve como objetivo estudar o efeito de óleos e extratos vegetais sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*. No experimento de óleos essenciais, concentrações de 25, 50, 75 e 100 µg de i.a mL⁻¹ de azadiractina, obtida de nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss), foram estudadas em associação às doses de 0, 1/3, 1/6, 1/8 e 1/10 do óleo de Karanja (*Pongamia glabra*). Quanto ao experimento de extratos vegetais, estudou-se as espécies Aroeirinha (*Schinus molle* L.), Mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.), Alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), Losna (*Artemisia absinthium* L.), Jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels), Arruda (*Ruta graveolens* L.), Mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), Santa Bárbara (*Melia azedarach* L.) e Pimenta longa (*Piper aduncum* L.) na concentração de 30%. Óleos e extratos vegetais foram incorporados, separadamente, ao meio de cultura BDA e vertido em placa de Petri de 9 cm de diâmetro, na qual depositou-se um disco de BDA, contendo micélio do fungo. As placas foram incubadas à temperatura de 22 ± 3 °C e fotoperíodo de 12 horas. As avaliações consistiram em medições diárias do diâmetro da colônia, durante 48 horas. A maior inibição do crescimento micelial foi diretamente proporcional ao aumento das concentrações dos óleos de nim indiano e de Karanja. A concentração de azadiractina, correspondente a 100 µg de i.a mL⁻¹ com 1/3 de óleo de Karanja foi a mais eficiente na redução do crescimento micelial, com 63% de inibição. Em relação aos extratos vegetais, o fruto de pimenta longa foi o mais promissor sobre a redução do crescimento micelial, com 43% de inibição.

PALAVRAS-CHAVE: Extratos aquosos. Óleos essenciais. Controle alternativo. Crescimento micelial.

INTRODUÇÃO

O controle de doenças de plantas é freqüentemente realizado com fungicidas. Entretanto, o uso de fungicidas é proibido nos processos orgânicos de produção, conforme as exigências das instituições certificadoras, devendo ser substituídos por produtos alternativos. De acordo com Ghini e Kimati (2000) o uso indiscriminado de defensivos agrícolas no controle de doenças de plantas pode causar sérios riscos à saúde humana e contaminação do meio ambiente, além dos possíveis problemas de resistência de fitopatógenos.

Desta forma, é necessário a busca por métodos alternativos de controle de doenças que causem menos impacto ao meio ambiente e seja eficiente no manejo de doenças. Algumas plantas, por apresentarem uma diversidade de substâncias em sua composição, muitas vezes com potencial fungicida ou fungistático, devem ser estudadas para serem utilizadas diretamente pelo produtor, bem como servir de matéria-prima para síntese de novos fungicidas (CELOTO et al., 2008), ou ainda serem

utilizadas na indução de resistência às plantas (STANGARLIN, 2007).

O nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss), originário da Índia e pertencente à família Meliaceae, tem sido estudado por diversos autores para controle de fitopatógenos (MELLO et al., 2005; PIGNONI; CARNEIRO, 2005; CARNEIRO, 2003; NEVES et al., 2003). A azadiractina é o principal composto da planta com capacidade de controle de fitopatógenos, sendo biodegradável e de persistência curta no meio ambiente (MARTINEZ, 2002). Outra planta também de origem indiana e da família Papilionaceae é a Karanja (*Pongamia glabra*), para a qual já foi relatado efeito anti-helmíntico contra *Pheretima posthuma* (NIRMAL et al., 2006), bactericida (BASWA et al., 2001) e inseticida (GEORGE; VINCENT, 2005). O óleo de Karanja apresenta efeito sinérgico quando associado ao óleo de nim indiano, podendo aumentar a eficiência do nim indiano (BASWA et al., 2001), ação inseticida sinérgica também foi verificada entre Karanja e ata (*Annona squamosa*) sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* (GEORGE; VINCENT, 2005). A planta, ainda, é utilizada na medicina em

tumores, úlcera e reumatismo (NIRMAL et al., 2006). Em estudos fitopatológicos, os resultados ainda são incipientes.

O óleo de nim nas concentrações de 0,25, 0,5 e 2% reduziram o crescimento micelial e formação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, comparado ao tratamento testemunha (MELLO et al., 2005). Extrato de folha de nim nas concentrações de 10, 20 e 30%, aplicado no início do surgimento dos sintomas, mostrou-se eficiente no controle do oídio da ervilha (SINDHAN et al., 1999). Carneiro (2003) verificou que o óleo de sementes de nim, mesmo em concentrações menores, foi mais eficiente que o extrato da folha no controle do oídio do tomateiro. Segundo Martinez (2002), a melhor eficiência do óleo, em relação ao extrato de folha, deve-se provavelmente à presença da azadiractina nas sementes. Pignoni e Carneiro (2005) observaram que óleo de nim foi mais eficiente sobre a severidade da pinta preta do tomateiro do que a severidade da antracnose do feijoeiro. Koono e Budida (2011) verificaram que extratos de folhas de nim indiano proporcionaram efeito antibacteriano às bactérias *Proteus vulgaris* e *Micrococcus luteus*. Extratos de sementes de nim indiano apresentaram efeito sobre o desenvolvimento do nematóide *Heterodera glycines* (Silva et al., 2008). Efeito do óleo de sementes de nim indiano foi verificado sobre a redução do número de esporos de *Phaeoisariopsis griseola* e no controle da mancha angular do feijoeiro quando as aplicações ocorreram antes da inoculação (CARNEIRO et al., 2008).

Pimenta-longa ou pimenta-de-macaco (*Piper aduncum* L.) é uma planta aromática da família Piperaceae, nativa da região Amazônica (SILVA, 2004). O óleo desta piperácea é rico em dilapiol, com comprovada ação fungicida, moluscicida, acaricida, bactericida e larvicida com a vantagem de ser um produto biodegradável (SILVA, 2004; BASTOS, 1997). Óleo de pimenta-longa (*Piper aduncum*) mostrou-se eficiente no controle de *Colletotrichum musae* em frutos de banana em pós-colheita (BASTOS; ALBUQUERQUE, 2004). Silva e Bastos (2007) também verificaram ação inibitória com óleos essenciais de espécies de *Piper* sobre o crescimento micelial dos fungos *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*, além de reduzir a germinação de basidiósporos de *Crinipellis pernicioso*. Segundo Lobato et al. (2007), o óleo essencial de pimenta longa (*Piper aduncum*) na concentração de 0,5%, apresentou melhor custo/benefício e não foi fitotóxico à germinação das sementes, além de reduzir os fungos *Aspergillus flavus*, *Penicillium*

spp., *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* Kuhn e *Macrophomina phaseolina* associados às sementes de caupi (*Vigna unguiculata*).

Outras plantas também têm sido estudadas no controle de fitopatógenos. Domingues et al. (2009) observaram que as maiores porcentagens de inibição do crescimento micelial foram obtidas com os extratos hexânicos em relação aos extratos etanólicos, sendo que a inibição total do crescimento micelial foi obtida com os extratos de arruda (*Ruta graveolens*), allamanda (*Allamanda cathartica*), maria-sem-vergonha (*Impatiens walleriana*) para *Sclerotium rolfsii* e com maria-sem-vergonha (*Impatiens walleriana*) para *Alternaria solani*. Nenhum extrato conseguiu inibir totalmente o crescimento de *Colletotrichum acutatum*. Celoto et al. (2008) avaliaram o efeito de extratos de plantas de 22 espécies sobre o crescimento micelial e germinação de esporos de *Colletotrichum gloeosporioides*. Os autores verificaram que extratos aquosos e hidroetanólico de melão-de-são-caetano (*Momordica charantia*) e extrato hidroetanólico de eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) foram os mais eficientes na inibição do crescimento micelial, enquanto que os extratos aquosos de bucha (*Luffa acutangula*), eucalipto (*Eucalyptus citriodora*), erva-santa-maria (*Chenopodium ambrosioides*) e unha-de-vaca (*Bauhinia* spp.) e os extratos hidroetanólicos de arruda (*Ruta graveolens*), eucalipto (*Eucalyptus citriodora*), gengibre (*Zingiber officinale*) e erva-santa-maria (*Chenopodium ambrosioides*) inibiram mais de 90% da germinação de esporos. Balbi-Peña et al. (2006a) relataram que os extratos não autoclavados de açafraão (*Curcuma longa*) a 10% e 15% inibiram o crescimento micelial em 38,2 e 23,2%, respectivamente, e a esporulação em 71,7 e 87%, respectivamente, do fungo *Alternaria solani*.

Venturoso et al. (2011) verificaram que meios de cultura contendo os extratos de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L.), alho (*Allium sativum* L.) e canela (*Cinnamomum zeylanicum* Breym), concentração de 20%, foram os mais promissores sobre a redução do crescimento micelial dos fitopatógenos *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Cercospora kikuchii*, *Colletotrichum* sp., *Fusarium solani* e *Phomopsis* sp., destacando o extrato de cravo-da-índia, que inibiu completamente o desenvolvimento de todos os fitopatógenos testados.

Itako et al. (2008) verificaram que os extratos brutos aquosos de cânfora (*Artemisia camphorata*), capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*) reduziram a esporulação e germinação de esporos de *Alternaria*

solani. Em relação à proteção das plantas verificou-se uma redução no número de lesões em relação à testemunha, nas folhas acima das tratadas, observando o efeito sistêmico dos extratos. Balbi-Peña et al. (2006b) também verificaram que curcumina e os extratos de cúrcuma a 1% e 10% apresentaram controle da pinta preta causada por *A. solani* em tomateiro, similares ao tratamento com o fungicida oxicloreto de cobre, mas inferior ao fungicida azoxystrobin. Martins et al. (2010) verificaram que óleo de *Melaleuca arternifolia* reduziu o crescimento micelial dos fungos *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Alternaria alternata*, a partir da concentração de 0,2% incorporada ao meio de cultura.

Embora a literatura relate vários casos de controle de doenças pelo uso de óleos essenciais e extratos aquosos de diversas plantas, são escassos os estudos de métodos alternativos de controle da podridão branca da haste da soja, causada por *Sclerotinia sclerotiorum*, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Desta forma, este trabalho objetivou estudar o efeito dos óleos de nim indiano (*Azadirachta indica*) e Karanja (*Pongamia glabra*), bem como extratos vegetais aquosos sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do isolado de *S. sclerotiorum*

Tabela 1. Concentrações de nim indiano (*Azadirachta indica*) associadas às concentrações de Karanja (*Pongamia glabra*).

Concentrações de Karanja (<i>Pongamia glabra</i>) (μL)	Concentrações de nim indiano (<i>Azadirachta indica</i>) ($\mu\text{g mL}^{-1}$)			
	25	50	75	100
0	0	0	0	0
1/3	67	133	200	267
1/6	33	67	100	133
1/8	25	50	75	100
1/10	20	40	60	80

As concentrações de nim indiano e Karanja foram adicionadas ao meio de cultura após esterilização e resfriamento, bem como para o tratamento com fungicida. Como adjuvante, utilizou-se Tween 20, a 0,05 %, para homogeneização dos óleos ao meio de cultura. Após a solidificação do meio de cultura, discos de BDA de 6 mm de diâmetro, contendo micélio com 7 dias de idade, foram depositados no centro das placas de Petri de 9 cm de diâmetro, as quais foram incubadas

O isolado de *S. sclerotiorum* utilizado neste estudo foi obtido de escleródios formados no interior da haste de soja, provenientes de campos comerciais de Jataí-GO. Em laboratório, os escleródios foram previamente desinfestados em álcool a 50% e hipoclorito de sódio a 0,5%, por 30 e 60 segundos, respectivamente. Em seguida, os escleródios foram enxaguados em água destilada estéril por três vezes e transferidos para placas de Petri contendo meio BDA. As placas de Petri foram incubadas a 22 ± 3 °C e fotoperíodo de 12 horas, sob luz fluorescente. Assim que os escleródios começaram a germinar, retirou-se um disco de BDA com aproximadamente 0,6 cm de diâmetro, contendo micélio, da borda da colônia e transferiu-se para placa de Petri, incubando-o novamente nas mesmas condições descritas acima.

Inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* com óleo de nim indiano associado ao óleo de Karanja

Para estudar o efeito de nim indiano e Karanja sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*, concentrações de 25, 50, 75 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de nim indiano, foram associadas as concentrações de 0, 1/3, 1/6, 1/8 e 1/10 de Karanja (Tabela 1). Como controle negativo, utilizou-se a testemunha (ausência de nim indiano e Karanja) e fungicida procimidone, na concentração de 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ do ingrediente ativo, como controle positivo.

à temperatura de 22 ± 3 °C e fotoperíodo de 12 horas, durante 48 horas.

Inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* com extratos vegetais aquosos

As plantas estudadas foram coletadas nas cidades de Uberlândia-MG e Goiatuba-GO, sendo elas: aroeirinha (*Schinus molle* L.), mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.), alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), losna (*Artemisia absinthium* L.),

jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels), arruda (*Ruta graveolens* L.), mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), Santa Bárbara (*Melia azedarach* L.) e pimenta longa (*Piper aduncum* L.).

As partes das plantas estudadas foram as folhas, com exceção de pimenta longa, que além da folha estudou-se o fruto. Após a coleta, as folhas e frutos foram lavados em água corrente e desinfestados em hipoclorito de sódio, a 0,5%, durante 30 minutos, a fim de eliminar microrganismos presentes na superfície das mesmas. Decorrido este período, as folhas e frutos foram lavados com tríplice lavagem em água corrente, para retirada do excesso de hipoclorito, e secos em papel toalha por 24 horas. Em seguida, os materiais foram acondicionados em sacos de papel e colocados em estufa, com circulação de ar, a 45 °C, por 96 horas para folhas e 120 horas para frutos. Após a secagem, o material foi moído em moinho de facas.

O extrato aquoso foi obtido deixando-se o material moído, imerso em água destilada estéril por 12 horas, na dosagem de 100 g L⁻¹, para liberação das substâncias presentes. Em seguida, procedeu-se a filtragem dos extratos em gaze estéril. Disco de BDA de 6 mm de diâmetro, contendo micélio com 8 dias de idade, foi depositado no centro da placa de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo meio BDA e o extrato vegetal na concentração de 30%. Como controle negativo, utilizou-se a testemunha (ausência de extrato vegetal) e fungicida procimidone, na concentração de 10 µg mL⁻¹ do ingrediente ativo, como controle positivo. As placas foram incubadas, à temperatura de 22 ± 3 °C e fotoperíodo de 12 horas, durante 48 horas.

Avaliações

As avaliações consistiram em medições diárias do diâmetro das colônias, por meio de régua, iniciadas 24 horas após a incubação e encerradas 48 horas após, quando as colônias fúngicas, do tratamento testemunha, atingiram toda a superfície do meio. A partir dos dados determinou-se a porcentagem de inibição do crescimento micelial através da fórmula:

$$PICM = \frac{(DTT - DTQ)}{DTT} \times 100$$

Onde: PICM = porcentagem de inibição do crescimento micelial, DTT = diâmetro no tratamento testemunha, DTQ = diâmetro no tratamento químico.

Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental referente ao experimento de nim indiano e Karanja foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial de 4 (concentrações de nim indiano) x 5 (concentrações de Karanja) + 2 (controle negativo e positivo), com 3 repetições. No experimento de extratos vegetais, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado constituído de 12 tratamentos, com 5 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F a 1% de significância. As médias dos tratamentos no experimento de extratos vegetais foram comparadas pelo teste de Scott-Knott à 5% de significância e submetidas a uma regressão no experimento de nim indiano e Karanja, por meio do software SISVAR (FERREIRA, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeito do óleo de nim indiano associado ao óleo de Karanja sobre o crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*

O efeito da interação do óleo de nim indiano e Karanja sobre a inibição do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* foi significativo ($P \leq 0,001$), sendo a maior porcentagem de inibição proporcional ao aumento das concentrações de nim indiano e Karanja (Figura 1). A concentração de 100 µg mL⁻¹ de *azadiractina* com 1/3 do óleo de Karanja inibiu em 63% o crescimento micelial, demonstrando efeito sinérgico entre nim indiano e Karanja, pois somente a concentração de 100 µg mL⁻¹ de nim indiano reduziu em 53,6% o crescimento micelial. Efeito sinérgico entre nim indiano e Karanja também foi verificado por Baswa et al. (2001). George e Vicent (2005) também verificaram efeito sinérgico entre Karanja e *ata* (*Annona squamosa*) sobre larvas de *Culex quinquefasciatus*.

A porcentagem de inibição do crescimento micelial, em função das concentrações do óleo de nim indiano e a da interação nim indiano e Karanja, foram melhores ajustadas ao modelo linear, com exceção da interação nim indiano com 1/3 do óleo de Karanja que se ajustou melhor ao modelo quadrático (Figura 1).

Apesar de nim indiano e Karanja reduzirem o crescimento de *S. sclerotiorum*, o fungicida procimidone foi superior a todas as concentrações estudadas com 100% de inibição. Em relação à testemunha, todas as concentrações de nim indiano e Karanja foram superiores na inibição do crescimento micelial (Tabela 1).

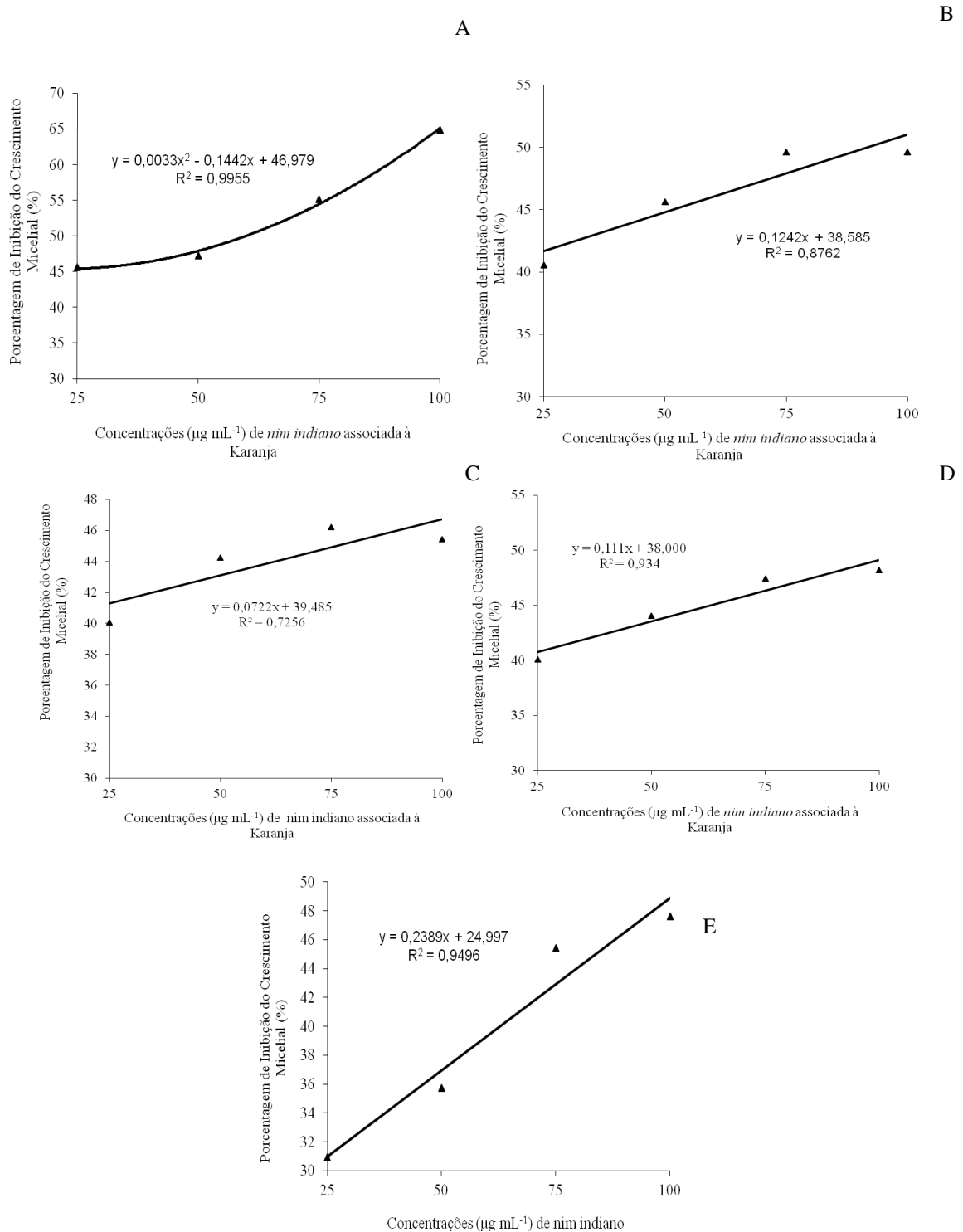


Figura 1. Efeito das concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) de *nim indiano* e Karanja sobre a inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*. (A) 1/3 de Karanja, (B) 1/6 de Karanja, (C) 1/8 de Karanja, (D) 1/10 de Karanja e (E) *nim indiano*.

Tabela 1. Efeito das concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) de óleo de nim indiano e Karanja, em comparação aos tratamentos adicionais (testemunha e fungicida), na porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICM) de *Sclerotinia sclerotiorum*

Tratamentos	PICM
Testemunha	0,0 g
Procimidone	100,0 a
25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de nim indiano	31,0 f
25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de nim indiano com 1/3 Karanja	45,6 d
25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de nim indiano com 1/6 Karanja	40,7 e
25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de nim indiano com 1/8 Karanja	40,1 e
25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de nim indiano com 1/10 Karanja	40,1 e
50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de nim indiano	35,7 f
50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de nim indiano com 1/3 Karanja	47,2 d
50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de nim indiano com 1/6 Karanja	45,6 d
50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de nim indiano com 1/8 Karanja	44,2 d
50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de nim indiano com 1/10 Karanja	44,0 d
75 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de nim indiano	45,4 d
75 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de nim indiano com 1/3 Karanja	55,2 c
75 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de nim indiano com 1/6 Karanja	49,6 d
75 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de nim indiano com 1/8 Karanja	46,2 d
75 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de nim indiano com 1/10 Karanja	48,2 d
100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de nim indiano	53,6 c
100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de nim indiano com 1/3 Karanja	63,1 b
100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de nim indiano com 1/6 Karanja	49,6 d
100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de nim indiano com 1/8 Karanja	45,4 d
100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de nim indiano com 1/10 Karanja	48,2 d
CV (%)	7,54

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

O óleo de nim indiano possui em, sua composição, vários componentes, entre eles os terpenos e os flavonóides (NEVES et al., 2003). Os terpenos e os flavonóides são dotados de atividade antimicrobiana e atuam na defesa química das plantas contra fungos e bactérias (CASTRO et al., 2001). Segundo Silva (2001), a reunião de vários componentes na composição de óleos essenciais pode atuar de forma sinérgica e apresentar uma ampla gama de atuação fungicida ou fungistática. Taninos e flavonóides também estão presentes na composição química de Karanja (MANDAL et al., 1984). Os taninos possuem ação antimicrobiana e são encontrados em folhas de espécies arbóreas e aumentam de concentração com a idade das plantas, esta é a razão por que as folhas mais novas possuem maior suscetibilidade às doenças (CASTRO et al., 2001).

Mello et al. (2005) também verificaram que o óleo de nim, nas concentrações de 0,25, 0,5 e 2%, reduziu o crescimento micelial e formação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, comparado ao tratamento testemunha. Efeito do óleo de nim também foi verificado em doenças foliares, como oídio do tomateiro, com resultados similares ao fungicida triforine (CARNEIRO, 2003) e oídio da ervilha (SINDHAN et al., 1999).

Segundo Martinez (2002), a melhor eficiência do óleo, em relação ao extrato de folha, deve-se provavelmente à presença da azadiractina nas sementes. Carneiro et al. (2008) verificaram redução no número de esporos de *Phaeoisariopsis griseola* e no controle da mancha angular do feijoeiro quando as aplicações com óleo de sementes de nim indiano ocorreram antes da inoculação (CARNEIRO et al., 2008). Efeito

antibacteriano de extratos de folha de nim indiano também foi verificado sobre as bactérias *Proteus vulgaris* e *Micrococcus luteus* (KOONA; BUDIDA, 2011).

Os resultados obtidos demonstraram uma ação fungistática de óleo de nim indiano e Karanja contra *S. sclerotiorum*. Isto sugere que novas pesquisas devem ser realizadas no controle de fitopatógenos, em condições de campo e casa-de-vegetação, para que se possa recomendar a

utilização destes óleos em um sistema orgânico de produção ou ao manejo integrado da doença.

Efeito dos extratos vegetais sobre o crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*

Observando-se a Figura 2, verifica-se que aroeirinha, jambolão, alfavaca, mandioca e losna não diferiram da testemunha, proporcionando pouco efeito sobre *S. sclerotiorum*, enquanto que Santa Bárbara, mentrasto, arruda e folha de pimenta longa, reduziram em média 25% do crescimento micelial.

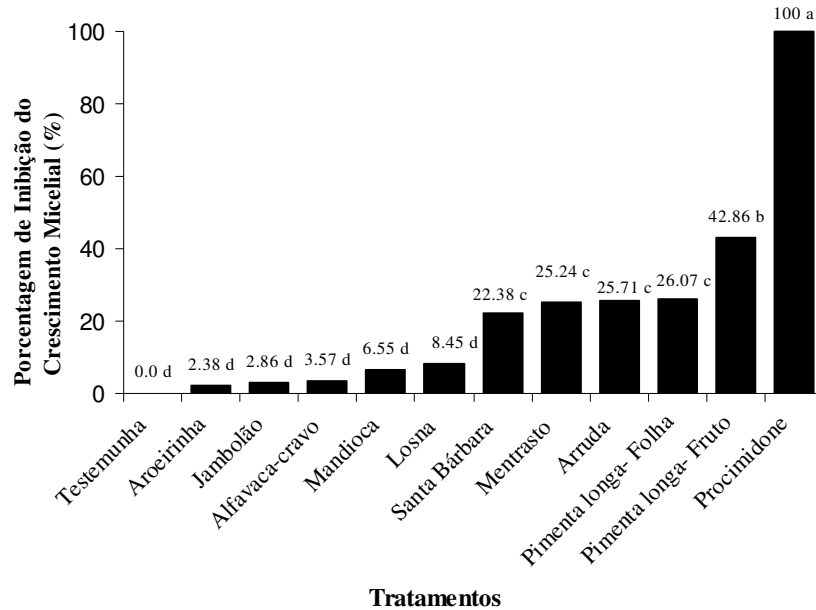


Figura 2. Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* em função do efeito dos extratos vegetais. Médias seguidas de letras distintas diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Celoto et al. (2008) também verificaram que extrato de arruda reduziu em aproximadamente 23% o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*. Dos dez extratos vegetais testados, o fruto de pimenta longa foi o mais promissor na inibição do crescimento micelial, reduzindo-o na ordem de 43%. Entretanto, nenhum extrato vegetal foi igual ao fungicida procimidone, o qual inibiu 100% do crescimento micelial (Figura 2). O fato do extrato aquoso do fruto de pimenta longa ter proporcionado melhor efeito sobre a inibição do crescimento micelial, em comparação ao extrato da folha, pode ser explicado devido à maior predominância de monoterpenos nos frutos (NAVICKIENE, 2006).

Silva e Bastos (2007) também verificaram ação inibitória com óleos essenciais de espécies de *Piper* sobre o crescimento micelial dos fungos *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e

Phytophthora capsici, além de reduzir a germinação de basidiósporos de *Crinipellis pernicioso*. Segundo Lobato et al. (2007), o óleo essencial de pimenta longa (*Piper aduncum*) na concentração de 0,5%, apresentou melhor custo/benefício e não foi fitotóxico à germinação das sementes, além de reduzir os fungos *Aspergillus flavus*, *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* Kuhn e *Macrophomina phaseolina* associados às sementes de caupi *Vigna unguiculata*. O óleo de pimenta-longa (*Piper aduncum*) também se mostrou eficiente no controle de *Colletotrichum musae* em frutos de banana em pós-colheita (BASTOS; ALBUQUERQUE, 2004).

Fiori et al. (2000) obtiveram 100% de inibição do crescimento micelial e germinação de esporos de *Didymella bryoniae*, com extrato de mentrasto. Possivelmente, isto pode ser explicado em função de vários fatores influenciarem nos

princípios ativos das plantas, como fator genético, condições de cultivo, colheita e processamento do material (CASTRO et al., 2001), além dos patógenos estudados serem diferentes. Desta forma, cuidados durante a colheita como época do ano, hora do dia, estágio de desenvolvimento, escolha da parte botânica e processamento do material devem ser levados em consideração para não influenciar no potencial fungistático ou fungicida das substâncias.

Apesar da planta pimenta longa ter apresentado efeito inibitório inferior a 50% do fitopatógeno *S. sclerotiorum*, carece que novos estudos sejam realizados utilizando a planta na indução de resistência (STANGARLIN, 2007), bem como utilização do óleo essencial e outras formas de extração de extrato aquoso, uma vez que o óleo de pimenta longa apresenta a vantagem de ser um produto biodegradável.

CONCLUSÕES

A eficiência na redução do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* foi diretamente

proporcional ao aumento das concentrações de nim indiano e Karanja, sendo a concentração de 100 µg mL⁻¹ de nim indiano com 1/3 de Karanja a mais eficiente.

A associação entre Karanja e nim indiano proporcionaram melhor efeito inibitório sobre o patógeno, demonstrando um efeito sinérgico. Dentre os extratos vegetais aquosos avaliados, o fruto de pimenta longa foi o mais promissor na inibição do crescimento micelial.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela concessão de bolsa de estudo durante o curso de mestrado do primeiro autor e ao Dr. Belmiro Pereira das Neves, pesquisador da Embrapa Arroz e Feijão, pelo envio dos óleos de nim indiano e Karanja.

ABSTRACT: Considering the importance of white mold, caused by the pathogen *Sclerotinia sclerotiorum*, to soybeans (*Glycine max*) and the lack of studies about alternative control ways of plant pathogens, this study evaluated the effect of vegetable oils and extracts on the mycelial growth of *S. sclerotiorum*. Concentrations of 25, 50, 75 and 100 µg a.i. mL⁻¹ of *azadiractine*, obtained from neem (*Azadirachta indica* A. Juss), were evaluated associated with the doses of 0, 1/3, 1/6, 1/8 or 1/10 of Karanja (*Pongamia glabra*) oil in the experiment with essential oils. Vegetable extracts of the species *Schinus molle* L., *Ageratum conyzoides* L., *Ocimum gratissimum* L., *Artemisia absinthium* L., *Syzygium cumini* (L.) Skeels, *Ruta graveolens* L., *Manihot esculenta* Crantz, *Melia azedarach* L. and *Piper aduncum* L. were evaluated in the concentration of 30%. Oils and vegetable extracts were incorporated, separately, into PDA culture medium and poured in 9-cm diameter petri plates, over which a PDA disk containing mycelium of the fungus was placed. The plates were incubated at 22 ± 3 °C and 12 hours lighting. The evaluations consisted of daily measurements of colony diameter for two days. The greatest mycelial growth inhibition was directly proportional to the concentration increase of neem and Karanja oils. Azadiractin concentration corresponding to 100 µg a.i. mL⁻¹ with 1/3 Karanja oil was the most effective on reducing mycelial growth, with 63% inhibition. Among the vegetable extracts, fruits of long pepper were the most promising for reducing mycelial growth, with 43% inhibition.

KEYWORDS: Water Extracts. Essential oils. Alternative control. Mycelial growth.

REFERÊNCIAS

- BALBI-PEÑA, M. I.; BECKER, A.; STANGARLIN, J. R.; FRANZENER, G.; LOPES, M. C.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e *Cucurmina* – I. Avaliação *in vitro*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 4, p. 401-404, 2006a.
- BALBI-PEÑA, M. I.; BECKER, A.; STANGARLIN, J. R.; FRANZENER, G.; LOPES, M. C.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e *Cucurmina* – II. Avaliação *in vivo*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 3, p. 310-314, 2006b.
- BASWA, M.; RATH, C. C.; DASH, S. K.; MISHRA, R. K. Antibacterial activity of Karanj (*Pongamia pinnata*) and Neem (*Azadirachta indica*) seed oil: a preliminary report. **Microbios**, Cambridge, v. 105, n. 412, p. 183-189, 2001.

- BASTOS, C. N. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipellis pernicioso* e outros fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 3, p. 441-443, 1997.
- BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, P. S. B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 5, p. 555-557, 2004.
- CARNEIRO, S. M. de T. P. G. Efeito de extratos de folhas e do óleo de nim sobre o oídio o tomateiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 29, n. 3, p. 262-265, 2003.
- CARNEIRO, S. M. de T. P. G.; PIGNONI, E.; GOMES, J. C. Efeito do nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) no controle da mancha angular do feijoeiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 10, n. 3, p. 6-10, 2008.
- CASTRO, H. G. de; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H. da; MOSQUIM, P. R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários**. Viçosa, MG, 2001, 101 p.
- CELOTO, M. I. B.; PAPA, M. F. S.; SACRAMENTO, L. V. S.; CELOTO, F. J. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 30, n. 1, p. 1-5, 2008.
- DOMINGUES, R. J.; SOUZA, J. D. F. de; TÖFOLI, J. G.; MATHEUS, D. R. Ação “in vitro” de extratos vegetais sobre *Colletotrichum acutatum*, *Alternaria solani* e *Sclerotium rolfsii*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 4, p. 643-649, out./dez., 2009.
- FERREIRA, F. A. **Sistema SISVAR para análises estatísticas**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2000. Disponível em: <<http://www.dex.ufla.br/~danielff/software.htm>>. Acesso em: 20 jun. 2006.
- FIORI, A. C. G.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; VIDA, J. B.; SCAPIM, C. A.; CRUZ, M. E. S.; PASCHOLATI, S. F. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 148, n. 7-8, p. 483-487, 2000.
- GEORGE, S.; VINCENT, S. Comparative efficacy of *Annona squamosa* Linn. and *Pongamia glabra* Vent. to *Azadirachta indica* A. Juss against mosquitoes. **Journal of Vector Borne Diseases**, New Delhi, v. 42, p. 159-163, 2005.
- GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000.
- ITAKO, A. T.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; TOLENTINO JÚNIOR, J. B.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. da S. Atividade antifúngica e proteção do tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33, n. 3, p. 241-244, 2008.
- KOONA, S.; BUDIDA, S. Antibacterial potencial of the extracts of the leaves of *Azadirachta indica* Linn. **Notulae Scientia Biologicae**, Cluj-Napoca, v. 3, n. 1, p. 65-69, 2011.
- LOBATO, A. K. da S.; SANTOS, D. G. C. dos; OLIVEIRA, F. C. de; GOUVEA, D. D. S.; TORRES, G. I. O. da S.; LIMA JÚNIOR, J. A. de; OLIVEIRA NETO, C. F. de; SILVA, M. H. L. da. Ação do óleo essencial de *Piper aduncum* L. utilizado como fungicida natural no tratamento de sementes de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 915-917, 2007.
- MANDAL, B.; MAJUMDAR, S. G.; MAITY, C. R. Chemical and nutritional evaluation of *Pongamia glabra* oil and *Acacia auriculaeformis*. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Champaign, v. 61, n. 9, p. 1447-1449, 1984.

MARTINS, J. A. S.; SAGATA, E.; SANTOS, V. A.; JULIATTI, F. C. Avaliação do efeito do óleo de *Melaleuca alternifolia* sobre o crescimento micelial *in vitro* de fungos fitopatogênicos. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 27, n. 1, p. 49-51, jan./feb. 2010.

MARTINEZ, S. S. Composição do nim. In: MARTINEZ, S. S. **O Nim – *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção**. Londrina: Instituto Agrônômico do Paraná, 2002. p. 23-30.

MELLO, A. F. S.; LOURENÇO, S. A. de; AMORIM, L. Alternative products in the *in vitro* inhibition of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, n. 2, p. 179-183, 2005.

NAVICKIENE, H. M. D.; MORANDIM, A. de A.; ALÉCIO, A. C.; REGASINI, L. O.; BERGAMO, D. C. B.; TELASCREA, M.; CAVALHEIRO, A. J.; LOPES, M. N.; BOLZANI, V. da S.; FURLAN, M.; MARQUES, M. O. M.; YOUNG, M. C. M.; KATO, M. J. Composition and antifungal activity of essential oils from *Piper aduncum*, *Piper arboretum* and *Piper tuberculatum*. **Química Nova**, São Paulo, v. 20, n. 3, p. 467-470, 2006.

NEVES, B. P. da; OLIVEIRA, I. P. de; MOHN, J. C. **Cultivo e Utilização do Nim Indiano**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2003, 12 p. (Circular Técnica 62).

NIRMAL, S. A.; MALWADKAR, G.; LAWARE, R. B. Anthelmintic activity of *Pongamia glabra*. **Songklanakar Journal of Science and Technology**, Hat Yai, v. 29, n. 3, p. 755-757, 2006.

PIGNONI, E.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Severidade da antracnose em feijoeiro e pinta preta em tomateiro sob diferentes concentrações de óleo de nim em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 1, p. 68-72, 2005.

SILVA, A. R. **Tudo sobre aromaterapia: como usá-la para melhorar sua saúde física, emocional e financeira**. 2 ed. São Paulo: Editora Roca Ltda, 2001.

SILVA, J. C. T.; OLIVEIRA, R. D. L.; JHAM, G. N.; AGUIAR, N. D. C. Effect of neem seed extracts on the development of the Soybean Cysts Nematode. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33, n. 3, p. 171-179, 2008.

SILVA, D. M. M. H.; BASTOS, C. N. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de *Piper* sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 2, p. 143-145, 2007.

SILVA, M. H. L. **Tecnologias para o desenvolvimento agroindustrial de *Piper aduncum* L.** 2004. 78f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Curso de Pós-graduação em Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

SINDHAN, G. S.; HOODA, I.; PARASHAR, R. D. Evaluation of plant extracts for the control of powdery mildew of pea. **Journal of Mycology and Plant Pathology**, New Delhi, v. 29, n. 2, p. 257-258, 1999.

STANGARLIN, J. R. Uso de extratos vegetais e óleos essenciais no controle de doenças de plantas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 40., 2007, Maringá. **Palestras...** Maringá: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2007. p. 94-95.

VENTUROSO, L. dos R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; CONUS, L. A.; PONTIM, B. C. A.; BERGAMIN, A. C. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologia**, Botucatu, v. 37, n. 1, p. 18-23, 2011.