

Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre fungos fitopatogênicos

Rúbia Borges Cruz Sarmiento Brum; Henrique Guilhon de Castro; Carlos Henrique Cardon; Anielli Souza Pereira; Dione Pereira Cardoso; Gil Rodrigues dos Santos.

Universidade Federal do Tocantins, *Campus* de Gurupi. Rua Badejós, Chácaras 69 e 72, Lote 07, Caixa Postal 66, Zona Rural, CEP 77404-970, Gurupi, Tocantins, Brasil. E-mails: binhabio@uft.edu.br, hguilhon@uft.edu.br, cardon-2007@hotmail.com, anisouza21@hotmail.com, _cardoso.dione@gmail.com, gilrsan@uft.edu.br.

Resumo: Óleos essenciais de plantas medicinais apresentam potencial de controle de fitopatógenos. Objetivou-se avaliar a fungitoxicidade *in vitro* dos óleos essenciais de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), citronela (*Cymbopogon nardus*), erva-cidreira (*Lippia alba*) e hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) sobre os fungos *Pyricularia grisea*, *Didymella bryoniae*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. Para avaliar a inibição do crescimento micelial, o experimento foi instalado no delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial. Foram testadas seis concentrações do óleo essencial (0, 0,25, 0,50, 0,75, 1,0 e 1,25 $\mu\text{L mL}^{-1}$), em cinco épocas de avaliação (dois, quatro, seis, oito e dez dias de incubação), com quatro repetições. Todas as concentrações dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. nardus* inibiram o crescimento de *S. rolfsii*. O óleo essencial de *C. citratus* foi o mais eficiente na inibição do crescimento de *P. grisea*, *D. bryoniae* e *R. solani*, a partir da concentração de 0,50 $\mu\text{L mL}^{-1}$ do óleo.

Palavras chave: Plantas medicinais, Crescimento micelial, Controle alternativo.

Antifungal activity of essential oils on pathogenic fungi

Abstract: Essential oils of medicinal plants show potential to control phytopathogens. The purpose was to evaluate the *in vitro* fungitoxicity of lemongrass (*Cymbopogon citratus*), citronella (*Cymbopogon nardus*), lemon balm (*Lippia alba*), and peppermint (*Mentha piperita*) essential oils on the *Pyricularia grisea*, *Didymella bryoniae*, *Rhizoctonia solani*, and *Sclerotium rolfsii* fungi. To evaluate the inhibition of mycelia growth, the experiment was conducted a fully randomized design in factorial arrangement. We tested six different concentrations of essential oil (0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.0 e 1.25 $\mu\text{L mL}^{-1}$) on for five evaluation periods (two, four, six, eight and ten days of incubation), with four replications. All concentrations of *C. citratus* and *C. nardus* essential oils inhibited the growth of *S. rolfsii*. The *C. citratus* essential oil was the most effective in inhibiting the growth of *P. grisea*, *D. bryoniae* and *R. solani* from the concentration of 0,50 $\mu\text{L mL}^{-1}$ of oil.

Key words: Medicinal plants, Mycelial growth, Alternative con.

Introdução

As doenças de plantas causadas por fungos provocam perdas na produção de diferentes culturas e reduzem a sua rentabilidade econômica. O crestamento gomoso do caule, agente causal *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm, é uma doença de grande impacto na

produção de curcubitáceas (FESSEHAIE et al., 2009). Santos et al. (2009) destacam essa doença como uma das principais do meloeiro (*Cucumis melo* (Mill.) J. H. Kirkbr.), ocasionando redução da produtividade e da qualidade dos frutos. A brusone, causada por *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc., é a doença mais destrutiva do arroz (PRABHU et al., 2002; URASHIMA et al.,

2007; LOBO, 2008;). O fungo *Sclerotium rolfsii* Sacc. é responsável pela podridão do colo e de raízes, murcha e tombamento de plântulas em uma extensa gama de espécies botânicas (MARTINS et al., 2003; SERRA & SILVA, 2005). *Rhizoctonia solani* J. G. Kuhn também apresenta uma ampla gama de hospedeiros e ocorre em todo o mundo, causando podridão de raízes e tombamento na maioria das plantas infectadas, além da doença conhecida como “mela”, em soja e outras leguminosas (ABOELLIL & MOHAMMED, 2011; ANITHA & ARUN DAS, 2011).

Os métodos mais utilizados para prevenir, controlar e erradicar doenças de plantas são aqueles que fazem uso dos fungicidas sintéticos. Mesmo apresentando resultados satisfatórios, o uso repetido e continuado destes defensivos, pode alterar o equilíbrio dos ecossistemas, de maneira a aumentar a incidência e severidade das doenças e selecionar isolados resistentes aos compostos químicos aplicados (LEE et al., 2008).

Atualmente, a crescente exigência por produtos vegetais de qualidade, livres de resíduos químicos acima do exigido nas leis de diversos países, incentiva a busca por substâncias alternativas (CARVALHO et al., 2008), de baixa toxicidade ao ser humano e também de baixo impacto ambiental. Nesse sentido, o uso de extratos de plantas apresenta potencial de controle de fitopatógenos. Em alguns estudos foi encontrada ação antimicrobiana dos óleos essenciais de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) (GUIMARÃES et al., 2011), citronela (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) (MEDICE et al., 2007), erva-cidreira (*Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. ex Britton & P. Wilson) (ROZWALKA et al., 2008) e hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.) (PEREIRA et al., 2006) sobre o crescimento de fungos fitopatogênicos.

Os óleos essenciais são misturas complexas e seus constituintes podem pertencer as mais diversas classes de compostos, porém os terpenos e os fenilpropenos são as classes de compostos mais comumente encontradas. Os terpenos encontrados com maior frequência nos óleos essenciais são os monoterpênicos e sesquiterpenos, bem como os diterpenos, constituintes minoritários dos óleos essenciais (CASTRO et al., 2004; CASTRO et al., 2007).

Diversos trabalhos com óleos essenciais

têm indicado o seu potencial no controle de bactérias (SILVA et al., 2010; DEMUNER et al., 2011; NASCIMENTO et al., 2011) e de fungos fitopatogênicos (VELOSO et al., 2012). A inibição do desenvolvimento de fungos pode ser tanto por sua ação direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de resistência a diversos patógenos (SCHWAN-ESTRADA et al., 2003; DONLAPORN & SUNTORNSUK, 2010; Deus et al., 2011; Perini et al., 2011; SEIXAS et al., 2011; GARCIA et al., 2012; PASSOS et al., 2012).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antifúngica de quatro óleos essenciais, in vitro, sobre a inibição do crescimento micelial dos fungos *P. grisea*, *D. bryoniae*, *R. solani* e *S. rolfsii*.

Material e métodos

Os fungos fitopatogênicos *P. grisea*, *D. bryoniae*, *R. solani* e *S. rolfsii* foram repicados de culturas armazenadas na Coleção Micológica do Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal do Tocantins. Estes fungos foram isolados no ano de 2011 a partir de plantas hospedeiras de arroz (*P. grisea*), melancia (*D. bryoniae*), feijão caupi (*R. solani*) e feijão comum (*S. rolfsii*).

Para cada fungo e óleo essencial foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial, com quatro repetições. Foram testadas seis concentrações do óleo ($C_1= 0 \mu\text{L mL}^{-1}$, $C_2= 0,25 \mu\text{L mL}^{-1}$; $C_3= 0,50 \mu\text{L mL}^{-1}$; $C_4= 0,75 \mu\text{L mL}^{-1}$; $C_5= 1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ e $C_6= 1,25 \mu\text{L mL}^{-1}$) em cinco épocas de avaliação (dois, quatro, seis, oito e dez dias de incubação). As cinco avaliações foram feitas por medições do diâmetro micelial (média de duas medidas diametralmente opostas), utilizando-se um paquímetro digital.

As folhas de citronela (*C. nardus*), capim-limão (*C. citratus*) e erva-cidreira (*L. alba*) foram desidratadas à temperatura ambiente. A extração dos óleos essenciais foi realizada pelo método de hidrodestilação (CASTRO et al., 2010), utilizando o aparelho de Clevenger. Os sobrenadantes foram coletados e armazenados em frascos estéreis. O óleo de hortelã-pimenta (*M. piperita*) (DOKMOS - Cosméticos®) foi adquirido no

Mercado Municipal de Gurupi, TO.

Para verificar o efeito dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial dos fitopatógenos, os óleos foram distribuídos na superfície do meio de cultura com auxílio de uma alça tipo Drigalsky (VELOSO et al., 2012). Após a distribuição, um disco de 6 mm de diâmetro de BDA contendo micélio do fungo foi colocado no centro das placas. As placas foram vedadas com filme plástico PVC, identificadas e incubadas à temperatura de 27 °C.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e independente da interação ser significativa optou-se pelo seu desdobramento. No fator concentração do óleo essencial, em cada tipo de óleo, as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, e no fator épocas de avaliação foram ajustadas equações de regressão com base no teste “t” dos coeficientes a 5% de probabilidade e no coeficiente de determinação (r^2). As análises foram realizadas por meio do sistema computacional SAEG (RIBEIRO JÚNIOR & MELO, 2008).

Resultados e discussão

O óleo essencial de capim-limão foi o mais eficiente na inibição do desenvolvimento do fitopatógeno *P. grisea*. O fungo apresentou crescimento apenas nas concentrações C_1 ($0 \mu\text{L mL}^{-1}$) e C_2 ($0,25 \mu\text{L mL}^{-1}$) do óleo essencial e somente após quatro dias de incubação foi observado seu crescimento sob C_2 (Tabela 1). Considerando o coeficiente angular da regressão linear, a taxa de crescimento micelial do fungo sob C_2 foi de $4,74 \text{ mm dia}^{-1}$ (Tabela 1) e seu diâmetro micelial, estimado na última avaliação, foi de 36,91 mm, diâmetro 41,9% menor que o estimado na concentração C_1 . Itako et al. (2009) observaram redução de até 40,67% do crescimento micelial de *Cladosporium fulvum* sob extrato bruto aquoso de capim-limão. Redução de até 100% do crescimento micelial de *C. coffeicola* pela ação do óleo essencial de capim-limão foi observado por Pereira et al. (2011), na concentração de $1000 \mu\text{L L}^{-1}$.

Sob o óleo essencial de citronela, *P. grisea* apresentou desenvolvimento nas concentrações

C_1 , C_2 e C_3 (Tabela 1). O crescimento micelial do fungo sob a concentração C_3 ($0,50 \mu\text{L mL}^{-1}$) desse óleo essencial foi de $4,49 \text{ mm dia}^{-1}$. Perini et al. (2013) observaram inibição total do crescimento *in vitro* de *P. grisea* sob diferentes alíquotas (30, 60, 90, 120 e $150 \mu\text{L}$) do óleo essencial de citronela.

Quando submetido às concentrações C_5 e C_6 do óleo essencial de erva-cidreira e C_4 , C_5 e C_6 do óleo de hortelã-pimenta, *P. grisea* não apresentou nenhum desenvolvimento.

A concentração de C_4 ($0,75 \mu\text{L mL}^{-1}$) do óleo de erva-cidreira retardou o desenvolvimento de *P. grisea* e reduziu sua taxa de crescimento diário de $7,04 \text{ mm dia}^{-1}$ (C_1) para $4,13 \text{ mm dia}^{-1}$ (Tabela 1). Sob esta concentração, só foi observado desenvolvimento do fungo após seis dias de incubação. Essa ação fungitóxica comprovada, não somente neste estudo, é uma das causas de indicação do óleo essencial de erva-cidreira para as indústrias agro-químicas (YAMAMOTO et al., 2008). O citral é o principal constituinte químico de interesse no óleo dessa planta (BARBOSA et al., 2006). Aquino et al. (2012) observaram o efeito deste composto na inibição do desenvolvimento de *Colletotrichum gloeosporioides* para a concentração de $8 \mu\text{L mL}^{-1}$.

Quando submetido à concentração C_3 do óleo essencial de hortelã-pimenta, *P. grisea* apresentou crescimento micelial diário de 4,15 mm. Pereira et al. (2006) avaliando o efeito do óleo essencial de hortelã-pimenta sobre o crescimento de *Aspergillus niger* e *A. flavus*, observaram redução significativa do crescimento micelial dos patógenos. A redução do crescimento micelial do *A. niger* ocorreu a partir da concentração de $1500 \mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto para o *A. flavus* a redução ocorreu em todas as concentrações (500, 1000, 1500 e $2000 \mu\text{g mL}^{-1}$).

Quando submetido ao óleo essencial de capim-limão, *D. bryoniae* não apresentou desenvolvimento a partir da concentração C_3 . A concentração C_2 reduziu a taxa de crescimento micelial para $7,92 \text{ mm dia}^{-1}$ (Tabela 2). Fiori et al. (2000) avaliando o óleo essencial de capim-limão sobre o crescimento micelial de *D. bryoniae*, verificou total inibição do desenvolvimento do fungo sob a dose de $20 \mu\text{L}$ do óleo.

Tabela 1 - Valores médios, equações de regressão e coeficiente de determinação (r^2) do crescimento micelial (mm) de *Pyricularia grisea*, em diferentes concentrações (Conc) ($C_1 = 0$; $C_2 = 0,25$; $C_3 = 0,50$; $C_4 = 0,75 \mu\text{L mL}^{-1}$) do óleo essencial de capim limão, citronela, erva-cidreira e hortelã-pimenta, em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação).

Conc.	Épocas de avaliação (dias de incubação)					Equação de regressão	r^2
	2	4	6	8	10		
Capim-limão							
C_1	6,71a	21,80a	35,88a	49,15a	63,48a	$\hat{y} = -6,86 + 7,04EA^{**}$	0,99
C_2	0,00b	7,38b	17,83b	27,22b	37,58b	$\hat{y} = -10,49 + 4,74EA^{**}$	0,93
Citronela							
C_1	6,71a	21,80a	35,88a	49,15a	63,48a	$\hat{y} = -6,86 + 7,04EA^{**}$	0,99
C_2	1,36a	13,82b	35,88b	39,57b	53,34b	$\hat{y} = -11,87 + 6,48EA^{**}$	0,94
C_3	0,00a	7,53b	16,75c	25,72c	35,89c	$\hat{y} = -9,81 + 4,49EA^{**}$	0,87
Erva-cidreira							
C_1	6,71a	21,80a	35,88a	49,15a	63,48a	$\hat{y} = -6,86 + 7,04EA^{**}$	0,99
C_2	4,41a	17,00b	29,92b	42,62b	56,41b	$\hat{y} = -8,81 + 6,48EA^{**}$	0,99
C_3	0,00b	3,88c	15,04c	27,24c	41,31c	$\hat{y} = -14,30 + 5,30EA^{**}$	0,95
C_4	0,00b	0,53c	8,86d	19,17d	32,04d	$\hat{y} = -12,69 + 4,13EA^{**}$	0,88
Hortelã-pimenta							
C_1	6,71a	21,80a	35,88a	49,15a	63,48a	$\hat{y} = -6,86 + 7,04EA^{**}$	0,99
C_2	0,48b	10,31b	22,18b	32,72b	44,01b	$\hat{y} = -10,90 + 5,47EA^{**}$	0,99
C_3	0,00b	0,00c	9,18c	19,46c	31,78c	$\hat{y} = -12,82 + 4,15EA^{**}$	0,92

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, para cada tipo de óleo, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. **Significativo a 1% de probabilidade pelo teste "t".

As concentrações C_4 , C_5 e C_6 do óleo essencial de citronela inibiram totalmente o crescimento de *D. bryoniae*. Sob as concentrações C_2 e C_3 a taxa de crescimento micelial do patógeno foi de 6,60 e 3,59 mm dia⁻¹, respectivamente (Tabela 2). Medice et al. (2007) avaliaram o efeito fungitóxico do óleo essencial de citronela na alíquota de 0,5 mL e observaram total inibição da germinação de urediniosporos do fungo *Phakopsora pachyrhizi*. Pereira et al. (2011) observaram total inibição de *Cercospora*

coffeicola utilizando o óleo essencial de citronela (*C. nardus*) a partir da concentração de 1000 $\mu\text{L L}^{-1}$.

Na concentração C_3 do óleo essencial de erva-cidreira, a taxa de crescimento de *D. bryoniae* foi de 6,10 mm dia⁻¹ (Tabela 2). Considerando essa taxa de crescimento o diâmetro micelial estimado na última avaliação foi de 46,19 mm. Propriedades antimicrobianas de óleos essenciais de outras espécies de *Lippia* também são conhecidas. O óleo essencial de

Lippia scaberrina reduziu em até 86% o crescimento micelial de *Botryosphaeria parva* na concentração de 2400 $\mu\text{L L}^{-1}$ (REGNIER et al., 2008).

D. bryoniae não se desenvolveu quando submetido ao óleo essencial de hortelã-pimenta

nas concentrações C_5 (1 $\mu\text{L mL}^{-1}$) e C_6 (1,25 $\mu\text{L mL}^{-1}$). Sob a concentração C_4 do óleo essencial de hortelã-pimenta, *D. bryoniae* teve seu desenvolvimento reduzido, pois somente na terceira avaliação iniciou o desenvolvimento.

Tabela 2 - Valores médios, equações de regressão e coeficiente de determinação (r^2) do crescimento micelial (mm) de *Didymella bryoniae*, em diferentes concentrações (Conc) ($C_1 = 0$; $C_2 = 0,25$; $C_3 = 0,50$; $C_4 = 0,75 \mu\text{L mL}^{-1}$) do óleo essencial de capim limão, citronela, erva-cidreira e hortelã-pimenta, em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação).

Conc.	Dias de incubação					Equação de regressão	r^2
	2	4	6	8	10		
Capim-limão							
C_1	21,17a	46,28a	67,20a	82,53a	84,00a	$\hat{y}=11,66+8,09EA^{**}$	0,92
C_2	1,26b	15,02b	36,09b	51,61b	62,13b	$\hat{y}=-14,28+7,92EA^{**}$	0,91
Citronela							
C_1	21,17a	46,28a	67,20a	82,53a	84,00a	$\hat{y}=11,66+8,09EA^{**}$	0,92
C_2	1,08b	12,63b	25,80b	39,52b	53,64b	$\hat{y}=-13,07+6,60EA^{**}$	0,94
C_3	0,00b	1,02c	8,98c	17,61c	27,64c	$\hat{y}=-10,51+3,59EA^{**}$	0,87
Erva-cidreira							
C_1	21,17a	46,28a	67,20a	82,53a	84,00a	$\hat{y}=11,66+8,09EA^{**}$	0,92
C_2	6,95b	27,10b	46,89b	62,80b	75,17b	$\hat{y}=-7,85+8,60EA^{**}$	0,96
C_3	0,00c	6,84c	20,36c	34,79c	47,07c	$\hat{y}=-14,81+6,10EA^{**}$	0,95
C_4	0,00c	0,00d	0,00d	0,23d	5,14d	$\hat{y}=-2,94+1,62EA^*+0,18EA^{**}$	0,50
Hortelã-pimenta							
C_1	21,17a	46,28a	67,20a	82,53a	84,00a	$\hat{y}=11,66+8,09EA^{**}$	0,92
C_2	5,59b	28,18b	51,28b	66,66b	76,95b	$\hat{y}=-8,62+9,06EA^{**}$	0,97
C_3	0,00b	9,90c	28,99c	47,97c	73,03c	$\hat{y}=-23,26+9,21EA^{**}$	0,97
C_4	0,00b	0,00d	4,58d	18,80d	38,76d	$\hat{y}=-16,47+4,82EA^{**}$	0,78

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, para cada tipo de óleo, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. **Significativo a 1% de probabilidade pelo teste "t".

A taxa de crescimento micelial diário foi reduzida de 8,09 na concentração C_1 para 4,82 mm dia^{-1} na

concentração C_4 (Tabela 2). Hussain et al. (2010) aplicaram 15 μL de óleo essencial *M. piperita*

para avaliar o crescimento de várias espécies de fungos. Esses autores observaram excelente ação fungitóxica do óleo essencial de hortelã-pimenta sobre o desenvolvimento dos fitopatógenos *Fusarium solani*, *Rhizopus solani*, *Alternaria solani*, *Alternaria alternata*, *Rhizopus* sp., *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger*.

O óleo essencial do capim-limão inibiu totalmente o crescimento micelial de *R. solani* em todas as concentrações utilizadas.

Na concentração C_1 (Tabela 3), *R. solani* apresentou crescimento micelial maior que nas outras concentrações dos óleos essenciais de citronela, erva-cidreira e hortelã-pimenta, cobrindo toda a superfície do meio de cultura na segunda época de avaliação. Isso explica a menor taxa de crescimento micelial diário do fungo, que foi de $2,61 \text{ mm dia}^{-1}$ (Tabela 3). Como

toda a superfície da placa estava colonizada pelo patógeno no quarto dia da incubação, não houve mais espaço físico para seu crescimento.

Na concentração C_2 do óleo essencial de citronela, até a quarta avaliação, o diâmetro micelial de *R. solani* foi significativamente menor que sob C_1 (Tabela 3). Até quatro dias de incubação, o diâmetro micelial do fungo sob a concentração C_2 do óleo essencial de erva-cidreira foi significativamente menor que o diâmetro micelial do patógeno quando submetido à C_1 . Corroborando com esse resultado, Tagami et al. (2009) observaram redução do crescimento micelial de *R. solani* sob extrato bruto aquoso de erva-cidreira. Quando submetido ao óleo essencial de hortelã-pimenta, na última avaliação, os diâmetros miceliais do fungo sob a concentração C_1 e C_2 foram iguais (Tabela 3).

Tabela 3 - Valores médios, equações de regressão e coeficiente de determinação (r^2) do crescimento micelial (mm) de *Rhizoctonia solani*, em diferentes concentrações (Conc) ($C_1 = 0$; $C_2 = 0,25 \mu\text{L mL}^{-1}$) do óleo essencial de citronela, erva-cidreira e hortelã-pimenta, em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação).

Conc.	Dias de incubação					Equação de regressão	r^2
	2	4	6	8	10		
Citronela							
C_1	57,90a	84,00a	84,00a	84,00a	84,00a	$\hat{y}=63,12+2,61EA^{**}$	0,50
C_2	0,00b	10,47b	23,12b	44,40b	78,57a	$\hat{y}=-26,01+9,55EA^{**}$	0,91
Erva-cidreira							
C_1	57,90a	84,00a	84,00a	84,00a	84,00a	$\hat{y}=63,12+2,61EA^{**}$	0,50
C_2	0,00b	24,67b	83,45a	84,00a	84,00a	$\hat{y}=-12,97+11,36EA^{**}$	0,80
Hortelã-pimenta							
C_1	57,90a	84,00a	84,00a	84,00a	84,00a	$\hat{y}=63,12+2,61EA^{**}$	0,50
C_2	0,00b	28,77b	43,58b	65,48b	84,00a	$\hat{y}=-17,05+10,23EA^{**}$	0,95

A ação de extratos e óleos essenciais sobre o desenvolvimento de *R. solani* é apresentada por outros estudos. Zanandrea et al. (2004) observaram redução no desenvolvimento

do patógeno sob tratamento com o óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*), na concentração de $1 \mu\text{L mL}^{-1}$. Costa et al. (2011) observaram redução significativa do crescimento micelial de

R. solani tratado com o óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*), na concentração de 0,15% após 12 horas de avaliação.

O desenvolvimento de *S. rolfsii* foi observado somente quando submetido aos óleos essenciais de erva-cidreira e hortelã-pimenta. Os óleos essenciais de capim-limão e citronela propiciaram inibição total do crescimento micelial deste fungo em todas as concentrações testadas (Tabela 4). Sob a concentração C₁ dos óleos essenciais de erva-cidreira e hortelã-pimenta, *S. rolfsii* apresentou maior crescimento micelial, cobrindo toda a superfície do meio de cultura na terceira avaliação. Esse fato explica a taxa de crescimento micelial diário menor que aquelas submetidas às outras concentrações dos óleos essenciais de erva-cidreira e hortelã-pimenta. Como toda a superfície da placa de Petri estava com desenvolvimento fúngico, após os seis dias de incubação não houve mais espaço

físico para seu crescimento micelial (Tabela 4).

Sob a concentração C₃ do óleo de erva-cidreira, *S. rolfsii* apresentou menor diâmetro micelial até a quarta avaliação (Tabela 4). Tagami et al. (2009) observaram redução de até 49% do crescimento micelial de *S. rolfsii* sob o extrato bruto aquoso de *L. alba*, na concentração de 33% dos homogenatos (folhas frescas de erva-cidreira trituradas em caldo de batata).

Na concentração C₃ do óleo essencial de hortelã-pimenta, o patógeno teve seu desenvolvimento paralisado, apresentando um pequeno crescimento após quatro dias de incubação e um diâmetro micelial significativamente menor que aquele submetido à C₁ em todas as avaliações (Tabela 4). Combrinck et al. (2011) observaram que a concentração de 3000 µL L⁻¹ do óleo essencial de *M. piperita* inibiu totalmente o desenvolvimento *in vitro* de *A. alternata*.

Tabela 4 - Valores médios, equações de regressão e coeficiente de determinação (r²) do crescimento micelial (mm) de *Sclerotium rolfsii*, em diferentes concentrações (Conc) (C₁ = 0; C₂ = 0,25; C₃ = 0,50 µL mL⁻¹) do óleo essencial erva-cidreira e hortelã-pimenta, em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação).

Conc.	Dias de incubação					Equação de regressão	r ²
	2	4	6	8	10		
Erva-cidreira							
C ₁	37,90a	60,91a	84,00a	84,00a	84,00a	$\hat{y}=35,57+5,77EA^{**}$	0,78
C ₂	12,63b	30,66b	48,31b	65,92b	84,00a	$\hat{y}=-5,09+8,89EA^{**}$	0,97
Hortelã-pimenta							
C ₁	37,90a	60,91a	84,00a	84,00a	84,00a	$\hat{y}=35,57+5,77EA^{**}$	0,78
C ₂	8,45b	24,87b	39,88b	61,22b	80,79a	$\hat{y}=-11,26+9,05EA^{**}$	0,96
C ₃	0,00b	1,82c	5,82c	13,41c	24,98b	$\hat{y}= 9,21$	-

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, para cada tipo de óleo, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste "t".

O óleo essencial extraído de *C. nardus* possui alto teor de geraniol e citronelal. O citronelal é utilizado como material básico para a

síntese de importantes compostos químicos denominados iononas e para a síntese de vitamina A. Esse óleo apresenta atividade

repelente a insetos e ação fungicida e bactericida. Ele é também utilizado na fabricação de perfumes e cosméticos (MUMCUOGLU et al., 2004; REIS et al., 2006; TRONGTOKIT et al., 2005; WONG et al., 2005).

Os constituintes majoritários do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* são monoterpenos, justificando o forte odor do óleo essencial. O óleo essencial de *Cymbopogon citratus* é caracterizado por apresentar citral como componente majoritário na forma de seus dois isômeros: geranial e neral. O citral é utilizado como matéria prima de importantes compostos químicos, denominados iononas, utilizados na perfumaria e na síntese de vitamina. O geranial e o neral também possuem atividade antibacteriana comprovada (MARTINS et al., 2004; KASALI et al., 2001).

Os compostos monoterpênicos citronelal, geraniol e neral atuam na defesa química da planta contra a ação de predadores. Os vapores do citronelal, utilizados por formigas, podem causar irritação suficiente em um predador para fazê-lo desistir de um ataque. O geraniol também possui atividade anti-séptica, inibindo o crescimento de fungos e bactérias (MANN, 1995; SIMÕES et al., 2004).

Conclusões

Conclui-se que os óleos essenciais de capim-limão e citronela apresentam alto potencial de controle como alternativa aos fungicidas sintéticos aplicados para o controle de *P. grisea*, *D. bryoniae*, *R. solani* e *S. rolfsii*. No caso do capim-limão, as doses que inibiram *P. grisea* e *D. bryoniae* foram $0,50 \mu\text{L mL}^{-1}$, $0,75 \mu\text{L mL}^{-1}$, $1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ e $1,25 \mu\text{L mL}^{-1}$, enquanto para os demais fungos houve inibição em todas as concentrações. Para o capim citronela as doses que inibiram totalmente *P. grisea* e *D. bryoniae* foram $0,75 \mu\text{L mL}^{-1}$, $1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ e $1,75 \mu\text{L mL}^{-1}$ e para *R. solani*, as doses $0,50 \mu\text{L mL}^{-1}$, $0,75 \mu\text{L mL}^{-1}$, $1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ e $1,25 \mu\text{L mL}^{-1}$. Em relação ao fungo *S. rolfsii* todas as doses testadas do capim citronela inibiram o seu crescimento totalmente.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelas bolsas de pesquisa e apoio financeiro.

Referências

- ABOELLIL, A.H.; MOHAMMED, N.M. Effect of some chemicals on growth, melanogenesis, pathogenicity and metabolic activities of *Rhizoctonia solani*. **Journal of Yeast and Fungal Research**, v.2, p. 143-152, 2011.
- ANITHA, A.; ARUN Das, M. Activation of rice plant growth against *Rhizoctonia solani* using *Pseudomonas fluorescens*, *Trichoderma* and salicylic acid. **Research in Biotechnology**, v.2, n.4, p. 07-12, 2011.
- AQUINO, C.F. et al. Ação e caracterização química de óleos essenciais no manejo da antracnose do maracujá. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.34, n.4, p.1059-1067, 2012.
- BARBOSA, F.F. et al. Influência da temperatura do ar de secagem sobre o teor e a composição química do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown. **Química Nova**, v.29, n. 6, p.1221-1225, 2006.
- CARVALHO, J.B. et al. Fungitoxicidade de *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon martinii* a *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de pimentão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.10, n.1, p.88-93, 2008.
- CASTRO, H.G. et al. Avaliação do teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.) em diferentes épocas de colheita. **Revista Ciência Agrônômica**, v.41, n.2, p.308-314, 2010.
- CASTRO, H.G. et al. Crescimento, teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.09, n.04, p.55-61, 2007.
- CASTRO, H.G. et al. Teor e composição do óleo essencial de cinco acessos de mentrasto. **Química Nova**, v.27, n.01, p.55-57, 2004.

- COMBRINCK, S.; REGNIER, T.; KAMATOU, G.P.P. *In vitro* activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. **Industrial Crops and Products**, v.33, n.2, p.344-349, 2011.
- COSTA, A.R.T. et al. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.2, p.240-245, 2011.
- DEMUNER, A.J. et al. Seasonal variation in the chemical composition and antimicrobial activity of volatile oils of three species of Leptospermum (Myrtaceae) grown in Brazil. **Molecules**, v.16, n.2, p.1181-1191, 2011.
- DEUS, R.J.A.; ALVES, C.N.; ARRUDA, M.S.P. Avaliação do efeito antifúngico do óleo resina e do óleo essencial de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.1, p.1-7, 2011.
- DONLAPORN, S.; SUNTORNSUK, W. Antifungal activities of ethanolic extract from *Jatropha curcas* Seed Cake. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.20, p.319-324, 2010.
- FESSEHAIE, Y.H. et al. Simultaneous detection of *Acidovorax avenae* subsp. *Citrulli* and *Didymella bryoniae* in cucurbit seedlots using magnetic capture hybridization and real-time polymerase chain reaction. **Phytopathology**, v.99, n.6, p.666-678, 2009.
- FIORI, A.C.G. et al. Antifungal Activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. **Journal of Phytopathology**, v.148, n.7-8, p.483-487, 2000.
- GARCIA, R.A. et al. Atividade antifúngica de óleo e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, v.28, p.48-57, 2012.
- GUIMARÃES, L.G.L. et al. Atividades antioxidante e fungitóxica do óleo essencial de capim-limão e do citral. **Revista Ciência Agrônômica**, v.42, n.2, p.464-472, 2011.
- HUSSAIN, A. et al. Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.90, n.11, p.1827-1836, 2010.
- ITAKO, A.T. et al. Controle de *Cladosporium fulvum* em tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.76, n.1, p.75-83, 2009.
- KASALI, A.A.; OYEDEJI, A.O.; ASHILOKUN, A.O. Volatile leaf oil constituents of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. **Flavour and Fragrance Journal**, v.16, n.05, p.377-378, 2001.
- LEE, Y. et al. Antifungal activity of Myrtaceae essential oils and their components against three phytopathogenic fungi. **Flavour and Fragrance Journal**, v.23, n.1, p.23-28, 2008.
- LOBO, V.L.S. Efeito do tratamento químico de sementes de arroz no controle da brusone nas folhas e na qualidade sanitária e fisiológica das sementes. **Tropical Plant Pathology**, v.33, n.2, p.62-166, 2008.
- MANN, J. **Secondary metabolism**. 2. ed. Oxford: Clarendon Press, 1995. 374p.
- MARTINS, M.B.G. et al. Caracterização anatômica da folha de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (Poaceae) e perfil químico do óleo essencial. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.06, n.03, p.20-29, 2004.
- MARTINS, M.V.V. et al. Erradicação de escleródios de *Sclerotium rolfsii* em substratos tratados em coletores solares, em Campos dos Goytacazes – RJ. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, n.3, p.421-424, 2003.
- MEDICE, R. et al. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.1, p.83-90, 2007.
- MUMCUOGLU, K.Y. et al. Repellency of citronella for head lice: double-blind randomized trial of efficacy and safety. **Israel Medical Association Journal**, v.06, n.12, p.756-759, 2004.
- NASCIMENTO, J.C. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Ocimum canum* Sims. and *Ocimum selloi* Benth.

Anais da Academia Brasileira de Ciências, v.83, n.3, p.787-799, 2011.

PASSOS, J.L. et al. Chemical Characterization of Volatile Compounds of *Lantana camara* L. and *L. radula* Sw. and their Antifungal Activity. **Molecules**, v.17, n.10, p.11447-11455, 2012.

PEREIRA, M.C. et al. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, n.4, p.731-738, 2006.

PEREIRA, R.B. et al. Potential of essential oils for the control of brown eye spot in coffee plants. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n.1, p.115-123, 2011.

PERINI, V.B.M. et al. Avaliação do efeito curativo e preventivo do óleo essencial do capim citronela no controle de *Pyricularia grisea*. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v.2, n.2, p. 23-27, 2011.

PERINI, V.B.M. et al. Efeito de extratos vegetais na inibição do crescimento micelial de *Pyricularia grisea*. **Journal of Biotechnology and biodiversity**, v.4, n.1, p. 70-77, 2013.

PRABHU, A. et al. Genetic and phenotypic characterization of isolates of *Pyricularia grisea* from the rice cultivars EPAGRI 108 and 109 in the state of Tocantins. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, n.6, p.566-573, 2002.

REGNIER, T. et al. Fungitoxicity of *Lippia scaberrima* essential oil and selected terpenoid components on two mango postharvest spoilage pathogens. **Postharvest Biology and Technology**, v.48, n., p.254-258, 2008.

REIS, G.G. et al. Estudo do efeito da secagem em convecção natural e forçada na composição do óleo essencial da citronela (*Cymbopogon nardus*). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.08, n.04, p.47-55, 2006.

RIBEIRO JÚNIOR, J.I.; MELO, A.L.P. Guia Prático para Utilização do SAEG. Editora da UFV: Viçosa. 2008. 288p.

ROZWALKA, L.C. et al. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e

aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, v.38, n.2, p.301-307, 2008.

SANTOS, G.R. et al. Reaction of melon genotypes to the gummy stem blight and the downy mildew. **Horticultura Brasileira**, v.27, n.2, p.160-165, 2009.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, v.28 (suplemento), p.554-556, 2003.

SEIXAS, P.T.L. et al. Controle fitopatológico do *Fusarium subglutinans* pelo óleo essencial do capim-citronela (*Cymbopogon nardus* L.) e do composto citronela. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, no. spe, p. 523-526, 2011.

SERRA, I.M.R.; SILVA, G.S. Caracterização Biológica e Fisiológica de Isolados de *Sclerotium rolfsii* Obtidos de Pimentão no Estado do Maranhão. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, n.1, p.61-66, 2005.

SILVA, C.J. et al. Chemical composition and antibacterial activities from the essential oils of myrtaceae species planted in Brazil. **Química Nova**, v.33, n.1, p.104-108, 2010.

SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2004. 1102p.

TAGAMI, O.K. et al. Fungitoxidade de *Bidens pilosa*, *Thymus vulgaris*, *Lippia alba* e *Rosmarinus officinalis* no desenvolvimento *in vitro* de fungos fitopatogênicos. **Semina: Ciências Agrárias**, v.30, n.2, p.285-294, 2009.

TRONGTOKIT, Y. et al. Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. **Phytotherapy Research**, v.19, n.04, p.303-309, 2005.

URASHIMA, A.S.; Leite, S.F.; Galbieri, R. Eficiência da disseminação aérea em *Pyricularia grisea*. **Summa Phytopathologica**, v.33, n.3, p.275-279, 2007.

VELOSO, R.A. et al. Composição e fungitoxicidade do óleo essencial de capim citronela em função da adubação orgânica.

Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.47, n.12, p.1707-1713, 2012.

WONG, K.K.Y. et al. Citronella as an insect repellent in food packaging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.11, p.4633-4636, 2005.

YAMAMOTO, P.Y. et al. Performance of ginger grass (*Lippia alba*) for traits related to the production of essential oil. **Scientia Agricola**, v.65, n.5, p.481-489, 2008.

ZANANDREA, L. et al. Atividade do óleo essencial de orégano contra fungos patogênicos do arroz: crescimentos micelial em placas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.14, supl.1, p.14-16, 2004.

Recebido em: 20/05/2013

Aceito em: 08/04/2014