



CONTROLE ALTERNATIVO DE CERCOSPORIOSE NA CULTURA DA ALFACE UTILIZANDO ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM

Karina Fonseca da Silva Cirino¹
Ronice Alves Veloso²
André José Campos³

Resumo

A cercosporiose é uma doença limitante para a cultura da alface (*Lactuca sativa*) devido causar danos no seu principal produto, as folhas. O controle é realizado convencionalmente por produtos químicos, causando vários riscos ao meio ambiente e a saúde humana. Nessa perspectiva, objetivou-se avaliar o potencial do óleo essencial de alecrim no controle alternativo desse fitopatógeno. A extração do óleo essencial de alecrim foi obtida por meio de hidrodestilação. O projeto foi desenvolvido *in vitro*, para avaliar o crescimento micelial. Utilizou-se o óleo nas concentrações de 0;1,0; 1,5; 2,0 e 2,5% no qual foram incorporados no meio de cultura, foram realizadas mensurações do diâmetro micelial em dois sentidos diametralmente opostos (N/S, W,E) em cinco avaliações com intervalos regulares de 48 horas. Os dados foram analisados por meio de análise de variância e de regressão com base nos coeficientes a 5 ou 1% de probabilidade e as médias comparadas pelo teste Tukey à 5% de significância, utilizou-se o programa estatístico SISVAR. O óleo essencial de alecrim demonstrou redução significativa no crescimento micelial da *C. longissima in vitro* em relação às épocas de avaliações, às 24 e 72 horas, devido maior presença óleo essencial de alecrim. Porém, não houve redução significativa se tratando das concentrações.

Palavras-Chave: *Cercospora longissima*. *Lactuca sativa*. *Rosmarinus officinalis*. Metabolismo secundário.

ALTERNATIVE CONTROL OF CERCOSPORIOSIS IN LETTUCE CULTURE USING ESSENTIAL OIL OF ROSEMARY.

Abstract

Cercosporiosis is a limiting disease for lettuce (*Lactuca sativa*) because it causes damage to its main product, leaves. The control is carried out conventionally by chemicals, causing several risks to the environment and human health. In this perspective, the objective was to evaluate the potential of the essential oil of rosemary in the alternative control of this phytopathogen. The extraction of essential oil from rosemary was obtained by hydrodistillation. The project was developed *in vitro* to evaluate mycelial growth. The oil was used at concentrations of 1.0; 1.5; 2.0 and 2.5% in which they were incorporated into the culture medium, measurements of the mycelial diameter were carried out in two diametrically opposite directions (N / S, W, E) in five evaluations with regular intervals of 48 hours. The data were analyzed by analysis of variance and regression based on the coefficients at 5 or 1% of probability and the means compared by the Tukey test at 5% of significance, the statistical program SISVAR was used. The essential oil of rosemary showed a significant reduction in the mycelial growth of *C. longissima in vitro* in relation to the evaluation times, at 24 and 72 hours, due to the presence of essential oil of rosemary. However, there was no significant reduction when dealing with concentrations.

¹ Graduanda em Agronomia. Faculdade Metropolitana de Anápolis, Brasil. karina18fs@gmail.com

² Co-orientadora, Docente Dra. Ronice Alves Veloso. Faculdade Metropolitana de Anápolis.

³ Docente Dr. André José de Campos. Universidade Estadual de Goiás (UEG/UnUCET), Brasil. andre.jose@ueg.br.



Keywords(ou Palavras-Chave): *Cercospora longíssima*. *Lactuca sativa*. *Rosmarinus officinalis*. Secondary metabolismo.



1. Introdução

As atividades agrícolas têm demonstrado ao decorrer dos anos alta capacidade de produção em um curto tempo. Juntamente a essa realidade surge a preocupação com uma alimentação saudável, e dessa forma, aumenta-se a expectativa na obtenção de plantas visualmente saudáveis, no entanto, fisiologicamente não se aplica em decorrência da utilização excessiva de produtos químicos. Quando se refere ao controle de doenças de plantas, principalmente causadas por fungos, à utilização de fungicidas, têm provocado consequências tanto ao homem quanto ao ambiente (DOMINGUES et al., 2011).

O cultivo de hortaliças é uma atividade agrícola de alto risco devido à susceptibilidade a diversas doenças, principalmente causadas por fungos e bactérias, que podem trazer prejuízos comerciais para a cultura e ainda a sensibilidade às condições climáticas dentre outros fatores (PEREIRA et al., 2013). No Brasil, a alface (*Lactuca sativa* L.) destaca-se devido seu grande valor comercial, sendo considerada a sexta olerácea em importância econômica e oitava em termos de produção (OLIVEIRA et al., 2005). No entanto, o controle de doenças na cultura é um desafio enfrentado corriqueiramente pelos horticultores.

A cercosporiose tem destaque como uma doença de importância econômica para a cultura da alface, devido causar danos no produto comercializável, ocorrendo tanto em cultivos no solo quanto em hidropônico (LOPES et al., 2010, SANTOS, 2011). É um patógeno que ocorre com grande variação de temperatura, sua disseminação ocorre por meio de sementes infectadas ou através de vento e água uma vez seus esporos são produzidos sobre a mancha ou por meio de inóculo advindo de restos culturais não totalmente decompostos (LOPES et al., 2010). Para o controle desta doença patógeno, os agricultores vêm utilizando na maioria das vezes produtos químicos, que podem causar sérios riscos ao meio ambiente (SCHWAN-ESTRADA et al., 2003), a alface ocupa lugar de destaque entre as hortaliças com maior contaminação por resíduos de agrotóxicos sintéticos prejudiciais à saúde humana e ambiental (ANVISA, 2013). Um método alternativo para o manejo de doenças é a substituição dos agrotóxicos por compostos naturais obtidos a partir de plantas (SCHWAN-ESTRADA et al., 2003). Diversas pesquisas têm comprovado o efeito de substâncias extraídas de plantas como os óleos essenciais e extratos vegetais, que atuam como antifúngicos naturais inibindo a atividade de microrganismos (SANTOS et al., 2010).

A utilização de óleos essenciais para o controle de fitopatógenos vem se expandindo no setor rural e tem apresentado desempenho promissor e eficaz. Algumas espécies de plantas condimentares têm demonstrado propriedades fungicidas, como por exemplo, destaca-se o alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) que além de ser muito utilizado como planta condimentar e aromática, possui propriedades medicinais e atividade antifúngica no controle de patógenos em espécies vegetais de interesse agrônômico (LEITE et al., 2012).

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade do óleo essencial de alecrim no controle de cercosporiose na cultura da alface.

2. Material e Método

O experimento foi conduzido na Universidade Estadual de Goiás (UEG) – Campus Henrique Santillo, no laboratório de Engenharia Agrícola e em casa de vegetação na área experimental da Faculdade Metropolitana de Anápolis (FAMA).

Obtenção do óleo essencial de alecrim

O óleo essencial foi obtido a partir de plantas de *R. officinalis* desidratadas adquiridas no Mercado Municipal de Anápolis. O óleo essencial foi extraído pelo método de hidrodestilação em aparelho Clevenger segundo a metodologia adaptada de Santos et al. (2004). Em um balão de fundo redondo no qual foi depositados 0,1 kg de folhas de *R. officinalis* mais 500 mL de água destilada e deixados sob fervura durante duas horas. Em seguida, coletou-se o óleo essencial na forma de sobrenadante, em frascos estéreis devidamente identificados e armazenados à temperatura de $4^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ até a utilização para a montagem do bioensaio in vitro.

As diferentes concentrações de óleo essencial foram preparadas a partir da diluição de uma solução estoque do óleo essencial de *R. officinalis* à 5%, utilizando-se como solução dispersante para diluição das concentrações de óleo essencial e uma solução estoque de Tween 80 à concentração de 1%.

Bioensaio in vitro

O experimento foi implantado em delineamento inteiramente casualizado em arranjo, constituído por cinco tratamentos e cinco épocas de avaliações, com quatro repetições. Os tratamentos consistirão de diferentes concentrações de óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* (0, 10, 15, 20, e 25 $\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$).

Para a implantação dos bioensaios, o patógeno foi obtido a partir de plantas doentes de alface apresentando os sintomas da *Cercospora longíssima*. Em seguida, as lesões foram submetidas à assepsia utilizando-se soluções de álcool 50%, hipoclorito de sódio a 1%, seguidas de três lavagens consecutivas em água destilada. Após o procedimento de assepsia, foram repicadas para placas de *petri* de 90 x10 mm, contendo meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar) comercial. Posteriormente, as placas de *petri* foram lacradas, identificadas e armazenadas durante sete dias para o desenvolvimento do patógeno.

Aos sete dias após a repicagem das lesões, as estruturas fúngicas foram identificadas baseadas em suas características morfológicas, com auxílio de microscópio estereoscópico óptico e literatura especializada (BARNETT & HUNTER, 1972). Identificado o agente patogênico *C. longíssima*, sua colônia foi utilizada para implantação do bioensaio *in vitro* de inibição do crescimento micelial. Inicialmente foi preparado o meio de cultura BDA e autoclavado. Com o meio ainda fundente, foi acrescido antibiótico Tetraciclina 30µg para evitar contaminação por bactérias. Foram vertidos aproximadamente 20 mL em cada placa. Após a solidificação do meio, as concentrações crescentes de óleo essencial de *R. officinalis* foram espalhadas como auxílio da alça de drigalski na sua superfície e em seguida, depositou-se no centro das placas com auxílio de uma pinça um disco de 0,6 mm contendo micélio de *C. longíssima*. As placas foram vedadas, identificadas e armazenadas a 25°C±2°C com fotoperíodo de 12 horas, em câmara incubadora BOD no laboratório de fitopatologia da Universidade Estadual de Goiás (UEG).

Para determinar a inibição do crescimento micelial do fitopatógeno foram efetuadas mensurações do diâmetro micelial em dois sentidos diametralmente opostos (N/S, W/E), utilizando-se paquímetro digital, em cinco avaliações com intervalos regulares de 48 horas.

3. Resultado e discussão

Na tabela 1 são apresentados os valores médios de crescimento micelial do fungo *Cercospora longíssima* em função de diferentes concentrações de óleo essencial de *Rosmarinus Officinalis*.

Tabela 1. Crescimento micelial médio de *Cercospora longíssima* isolada de lesões foliares de plantas de alface, em função de diferentes concentrações de óleo essencial de *Rosmarinus Officinalis* (0,0; 1,0; 1,5; 2,0; e 2,5%), avaliadas em diferentes épocas de avaliações (24; 72;120, 168 e 216 horas após a implantação do bioensaio).

ÉPOCAS



TRATAMENTOS %	24 h	72 h	120 h	168 h	216 h
0,0	8,43 e	25 d	46 c	59 b	72 a
1,0	3,02 e	23 d	42 c	54 b	66 a
1,5	4,97 e	25 d	46 c	59 b	72 a
2,0	3,64 e	24 d	45 c	57 b	69 a
2,5	3,56 e	24 d	45 c	57 b	72 a

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

*Tratamento Testemunha: não houve aplicação de óleo essencial (concentração 0,0 de óleo essencial).

Observou-se que nas avaliações de inibição do crescimento micelial do fungo *Cercospora longissima* não houve diferença significativa entre os tratamentos nas diferentes épocas de avaliações, no entanto, constatou-se diferença entre as épocas de avaliação de cada tratamento, no qual observou-se maior inibição do crescimento nas primeiras épocas, às 24 e 72 horas após a implantação dos bioensaios, devido a maior presença do óleo no meio de cultura. Com o passar do tempo pode-se perceber menor inibição nos últimos períodos de avaliações, às 120, 168 e 216 horas após a implantação dos bioensaios em que o fungo apresentou maior crescimento em decorrência da diminuição da atividade do óleo essencial, que provavelmente está relacionado a volatilização ou degradação dos constituintes químicos presente no óleo essencial *R. officinalis*, permitindo o crescimento do fungo.

Nos testes de Garcia et al. (2017) a concentração de 4000 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ do óleo essencial de alecrim reduziu o crescimento micelial de *Elsinoe ampelina* e a severidade da antracnose da videira. Celestino et al. (2015), observaram em seus estudos que o óleo essencial de alecrim apresentou efeito inibitório do crescimento micelial in vitro do fungo *Fusarium graminearum*, concluindo que os óleos essenciais testados podem ser utilizados para o controle alternativo de fungos na colheita e/ou no armazenamento de grãos, pois além de controle eficiente sobre os microrganismos, os óleos essenciais não apresentam efeito residual, não representando danos aos consumidores e nem ao meio ambiente (SANTOS et al., 2013).

4. Conclusões

Conclui-se que houve redução significativa no crescimento micelial da *C. longissima* in vitro em relação às épocas de avaliações, às 24 e 72 horas, devido maior presença óleo essencial de alecrim. Porém, não houve redução significativa se tratando das concentrações.

5. Agradecimentos

À Dra. Ronice Alves Veloso pela orientação e pelo apoio financeiro; a Faculdade Metropolitana de Anápolis pelo suporte prestado; Ao Dr. André José Campos pela oportunidade e apoio para dar andamento neste trabalho.

Referências

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2013. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA)**. Relatório de Atividades de 2011 e 2012. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/446359/Programa+de+An%C3%A1lise+de+Res%C3%ADduos+de+Agrot%C3%B3xicos+-+Relat%C3%B3rio+2011+e+2012+%281%C2%BA+etapa%29/d5e91ef0-4235-4872-b180-99610507d8d5>>. Acessado em: 30 de setembro de 2018.

BARNETT, H. C.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 3th ed. Mineapolis: Burgess Publishing, 1972, 241p.

CELESTINO, A. C.; AMALFI, I. N.; ROMOLI, J. C. Z.; BOMFIM, N. S.; MOSSINI, S. A. G.; MACHINSKI JUNIOR, M. M. Ação antifúngica do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim) em *Fusarium graminearum*. **Anais...** 24º Encontro Anual de Iniciação Científica, 4º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior. 2015.

DOMINGUES, R. J.; YOUNG, M. C. M.; TÖFOLI, J. G.; MATHEUS, D. R. Potencial antifúngico de extratos de plantas e de basidiomicetos nativos sobre *Colletotrichum acutatum*, *Alternaria solani* e *Sclerotium rolfsii*. **Summa phytopathologica**, v. 37, n. 3, p. 149-151, 2011.

GARCIA, C.; HORST, M. V.; MAIA, A. J.; LEITE, C. D.; FARIA C. M. D. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Óleo essencial de alecrim no controle de doenças da videira cultivar Cabernet Sauvignon. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.12, n.4, p.452-457, 2017.

LEITE, C. D.; MAIA, A. J.; BOTELHO, R. V.; FARIA, C. M. D. R.; MACHADO, D. Extrato de alho no controle *in vitro* e *in vivo* da antracnose da videira. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 3, p. 556-562, 2012.

LOPES, C. A.; QUEZADO-DUVAL, A.M.; REIS, A. **Doenças da alface**. Embrapa Hortaliças, Brasília, DF. 2010. 68p.

OLIVEIRA, A. M. C; PINTO, G. A. S; BRUNO, L. M; AZEVEDO, E. H. F. 2005. Avaliação da qualidade higiênica de alface minimamente processada, comercializada em Fortaleza, CE. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.19, n.135, p.80-85, 2005.

PEREIRA, R. B.; PINHEIRO, J. B.; CARVALHO, A. D. F.; **Diagnose e controle alternativo de doenças em alface, alho, cebola e brássicas**. Embrapa Hortaliças, Brasília, DF, 2013. 13p. (Embrapa Hortaliças: Circular Técnica 120).



SANTOS, A. S.; ALVES, S. de M.; FIGUEIRÊDO, F. J. C.; ROCHA NETO, O. G. **Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório.** Embrapa Amazônia Ocidental, Belém, PA, 2004. 6f. (Embrapa Amazônia Ocidental, Comunicado Técnico 99).

SANTOS, A. C. A.; ROSSATO, M.; SERAFINI, L. A.; BUENO, M.; CRIPPA, L. B.; SARTORI, V. C.; DELLACASSA, E.; MOYNA, P. Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2 (2): p.154-159, 2010.

SANTOS, A. G. dos. **Produtividade da alface cv Isabela cultivada sob diferentes níveis de composto orgânico e de biofertilizantes**, 2011. 42 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Universidade Federal de Sergipe, 2011.

SANTOS, P. L.; PRANDO, M. B.; MORADO, R.; PEREIRA, G. V. N.; KROKA, Q. Z. Utilização de extratos vegetais em proteção de plantas. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 17, p. 2562-2576, 2013.

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, supl., p. 554-556, 2003.