



UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA – UNEB
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS HUMANAS – CAMPUS IX
COLEGIADO DO CURSO DE ENGENHARIA AGRONÔMICA

**EFEITO FUNGISTÁTICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DE
ANTRACNOSE (*Colletotrichum gloeosporioides*) NO MAMÃO (*Carica papaya*
L.).**

BÁRBARA FRANCISCA BORGES PORTO VIANA

BARREIRAS - BA

2018

BÁRBARA FRANCISCA BORGES PORTO VIANA

EFEITO FUNGISTÁTICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DE ANTRACNOSE (*Colletotrichum gloeosporioides*) NO MAMÃO (*Carica papaya* L.).

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para obtenção do título de Engenheira Agrônoma, pela Universidade do Estado da Bahia, Departamento de Ciências Humanas, campus de Barreiras.

Orientador: Dsc. Reginaldo Conceição Cerqueira.

Coorientador: Dsc. João Luiz Coimbra.

BARREIRAS - BA

2018

BÁRBARA FRANCISCA BORGES PORTO VIANA

EFEITO FUNGISTÁTICO DO ÓLEO DE COPAÍBA (*Copaifera langsdorffii*), NIM (*Azadirachta indica*), ALECRIM (*Rosmarinus officinalis*) E MENTA (*Mentha*) NO CONTROLE DE ANTRACNOSE (*Colletotrichum gloeosporioides*) NO MAMÃO (*Carica papaya L.*).

TCC apresentado ao Colegiado de Engenharia Agrônoma, para obtenção do título de Engenheira Agrônoma, pela Universidade do Estado da Bahia – Campus IX.

Aprovado em: ___/___/ 2018

Prof. Dsc. Reginaldo Conceição Cerqueira
Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dsc. João Luiz Coimbra
Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dsc. Marcos Antônio Vanderlei Silva
Universidade do Estado da Bahia

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida, autor de meu destino, meu guia, socorro presente na hora da angústia, a minha mãe, ao Curso de Engenharia Agrônômica da UNEB, e às pessoas com quem convivi ao longo desses anos. A experiência de uma produção compartilhada com amigos se tornaram a melhor experiência da minha formação acadêmica.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me permitir chegar ao fim da realização de um sonho, e por todos os detalhes ajustados desde o ano de 2011, quando entrei na universidade.

Agradeço a minha mãe, que é meu alicerce e em nenhum momento deixou que eu desistisse desse sonho.

Agradeço também a todos que fizeram parte do meu projeto e realização da monografia; à turma 2011.1, que foi minha parceira de jornada. Aos meus colegas por dividir todas as dores e lutas comigo.

Ao meu orientador Reginaldo Cerqueira que não deixou de me apoiar e me orientar, e por não medir esforços em me ajudar nessa etapa final. Ao professor João Luiz Coimbra que me auxiliou quando necessário e esclareceu dúvidas, além de todo apoio.

Agradecer a Marcos Vanderley, que aceitou em participar da minha banca de TCC, mesmo sem participar de perto de todo experimento e trabalho, buscou estudar e entender, bem como sua colaboração como professora da disciplina de monografia, pela paciência e disposição, estando sempre disponível para esclarecer todas as dúvidas.

VIANA, Bárbara Francisca Borges Porto. **EFEITO FUNGISTÁTICO DO ÓLEO DE COPAÍBA (*Copaifera langsdorffii*), NIM (*Azadirachta indica*), ALECRIM (*Rosmarinus officinalis*) E MENTA (*Mentha*) NO CONTROLE DE ANTRACNOSE (*Colletotrichum gloeosporioides*) NO MAMÃO (*Carica papaya L.*)**. 2018. 32p. Monografia (Graduação em Engenharia Agrônômica) – Universidade do Estado da Bahia, Campus IX, Barreiras – Bahia, 2018.

RESUMO

O trabalho objetivou avaliar a o efeito fungistático de de óleos essenciais no controle *in vitro* do *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da antracnose em pós-colheita no mamão. Quatro óleos essenciais foram utilizados em concentração de 0,0%, 0,2%, 0,4%, 0,6% e 0,8% em um isolado padrão de *Colletotrichum gloeosporioides*. Afim de caracterizar o potencial de cada um dos óleos essenciais avaliados 10 microlitros da solução dos óleos foi pipetado no centro de placa de Petri contendo BDA e discos contendo micélios de *Colletotrichum gloeosporioides* foi repicado na lateral, as placas foram mantidas em sala de crescimento. Sobre o crescimento micelial do fungo pode-se perceber que as concentrações dos óleos essenciais analisados não formou halo de inibição do crescimento micelial em placa, havendo apenas um retardo no crescimento micelial na concentração mais alta do óleo. Sobre a esporulação o óleo de Copaíba na concentração de 0,8% mostrou melhor redução na germinação de conídios.

Palavras-chave: Óleos essenciais, pós-colheita, mamoeiro, antracnose.

VIANA, Bárbara Francisca Borges Porto. **FUNGIST EFFECT OF COPAÍBA OIL (*Copaifera langsdorffii*), NIM (*Azadirachta indica*), ALECRIM (*Rosmarinus officinalis*) AND MENTHA (*Mentha*) IN THE CONTROL OF ANTHRACNOSIS (*Colletotrichum gloeosporioides*) IN PAPAYA (*Carica papaya L.*)**. 2018. 32p. Monograph (Graduation in Agronomic Engineering) – University of the State of Bahia, Campus IX, Barreiras – Bahia, 2018.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the fungistatic effect of essential oils in the in vitro control of *Colletotrichum gloeosporioides*, the causal agent of anthracnose in Postharvest in papaya. Quatro essential oils were used in concentration of 0.0%, 0.2%, 0.4%, 0.6% and 0.8% in a standard isolate of *Colletotrichum gloeosporioides*. In order to characterize the potential of each of the essential oils evaluated 10 microliters of the solution of the oils was pipette in the center of Petri dish containing BDA and discs containing mycelia of *Colletotrichum Gloeosporioides* was peaked on the side, the plates were Maintained in the growth room. On the mycelial growth of the fungus, it can be perceived that the concentrations of the essential oils analyzed did not exert the expected inhibition, with delayed mycelial growth in the highest oil concentration. On sporulation, Copaiba oil in the concentration of 0.8% showed a better reduction in conidial germination.

Keywords: Essential Oils, postharvest, papaya, anthracnose.

LISTA DE GRÁFICOS

- GRÁFICO 1:** Inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* com diferentes concentrações do óleo de Alecrim.....22
- GRÁFICO 2:** Inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* com diferentes concentrações do óleo de Copaíba.....22
- GRÁFICO 3:** Inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* com diferentes concentrações do óleo de Menta.....23
- GRÁFICO 4:** Inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* com diferentes concentrações do óleo de Nim.....23
- GRÁFICO 5:** Porcentagem de germinação dos conídios de *C. gloeosporioides* com diferentes concentrações dos óleos essenciais de diferentes espécies vegetais.....24

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
2.1 Cultura do mamoeiro	10
2.2. Perdas pós-colheita	11
2.3. Antracnose no mamoeiro	12
2.4. Óleos essenciais	14
2.5. Atividade fungitóxica de óleos essenciais de plantas	15
3 MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1 Material	18
3.2 Métodos	18
3.2.1 Determinação da inibição do crescimento micelial.....	18
3.2.2 Determinação das concentrações de óleos essenciais sobre a germinação dos conídios	19
3.2.3 Delineamento experimental.....	19
3.2.4 Análise Estatística	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
5 CONCLUSÃO	26
REFERÊNCIAS	27

1 INTRODUÇÃO

A demanda mundial por frutas vem crescendo expressivamente nos últimos anos, em virtude, principalmente, da conscientização da população acerca da importância de uma alimentação saudável (OLIVEIRA, 2016). Fruticultura é a ciência e a arte do cultivo de plantas frutíferas e tem por objetivo a exploração racional de plantas lenhosas que produzem frutos comestíveis e se constitui em uma atividade de importância econômica, social e alimentar (SIMÃO, 1998).

A fruticultura é uma atividade de grande relevância econômica, e cada vez mais os produtores utilizam de pesquisas e tecnologias visando o aumento e qualidade da produção, e que a mesma atenda aos mercados interno e externo, e com custo de produção baixo para adquirir maiores lucros. O Brasil é o segundo produtor mundial de mamão, com uma produção de 1.517.696 t/ano, situando-se entre os principais países exportadores, principalmente para o mercado europeu. A espécie *Carica papaya* é a mais cultivada em todo mundo (SIMÃO, 1998).

Pelo fato de serem, em geral, tenros e suculentos, constituindo substratos ricos e adequados ao desenvolvimento microbiano são muito sujeitos a danos físicos e fisiológicos e, conseqüentemente, a infecções de pós-colheita (SIMÃO, 1998). As mais sérias perdas pós-colheita em produtos vegetais são causadas por infecções por microrganismos, como fungos, bactérias e em menor proporção vírus, favorecidas por danos físicos e fisiológicos que predispõe o produto a invasão de patógenos (SNOWDON, 1990 apud SIMÃO 1998).

Os fungos estão mais frequentemente envolvidos com as podridões de frutos e destacam-se como importantes agentes de doenças pós-colheita, sendo um grupo de microrganismos de maior frequência e atividade, responsável por 80 a 90% do total de perdas causadas por agentes microbianos (SIMÃO, 1998). As doenças pós-colheita se originam no campo, para frutíferas a antracnose é a doença que mais causa perdas, caracterizada por grandes lesões, de formas arredondadas, necróticas, contendo tecidos deprimidos ao centro, onde são produzidas massas de conídios com coloração alaranjada, proporcionando aos frutos uma podridão-mole (SILVA et al, 2006 apud RAMOS 2014).

As perdas pós-colheita são extremamente importantes nessa cultura visto que o mamão é um fruto sensível e suscetível a perdas nessa fase, geralmente causadas

pela principal doença pós-colheita da cultura, a antracnose, que tem como agente causal o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. Os fitopatógenos causam consideráveis perdas pós-colheita, podendo atingir 75% na fase de comercialização do mamão (PAULL et al, 1997 apud DANTAS et al, 2003). Segundo Simão (1998) essas perdas são particularmente importantes para o consumo in natura, quando se dá grande valor ao aspecto visual, pois mesmo pequenas manchas podem tornar o produto não comercializável.

Na agricultura atual é importante que se produza frutos de alta qualidade com menor utilização de agrotóxicos, pois além de promover um equilíbrio no ecossistema, também há benefícios para a saúde humana. Ainda na cultura do mamoeiro existem algumas limitações no uso de agrotóxicos, como haver poucos produtos registrados oficialmente para uso na cultura e alguns agrotóxicos podem causar fitotoxidez ou afetar no desenvolvimento da planta. Para reduzir os prejuízos causados por essa doença estudos e pesquisas buscam métodos alternativos de controle, a busca por antifúngicos a partir de plantas cresce e alguns estudos realizados com óleos essenciais se mostraram eficientes no controle do crescimento do *Colletotrichum gloeosporioides* em diversas culturas.

Considerando-se a importância do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* como agente causal da antracnose do mamoeiro, e as perdas relevantes desta doença pós-colheita, estudar o efeito fungistático do óleo de Copaíba (*Copaifera langsdorffii*), Nim (*Azadirachta indica*), Alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e Menta (*Mentha*) sobre o desenvolvimento micelial e esporulação do patógeno *Colletotrichum gloeosporioides* *penz* no mamão (*Carica papaya*) visando aumentar estratégias e métodos alternativos de controle.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cultura do mamoeiro

O mamão, *Carica papaya* L., provavelmente seja originário das planícies do leste da América Central, do México ao Panamá. Suas sementes foram distribuídas para o Caribe e o sul da Ásia durante a exploração espanhola no século 16, de onde se espalhou para a Índia, Pacífico e África. O mamão é hoje cultivado em todos os países tropicais e muitas regiões subtropicais do mundo (RIGOTTI, 2014).

Conforme Alves et al (2003) nos anos 60, a região de Monte Alto no estado de São Paulo, era considerada a capital brasileira do mamoeiro. Com o surgimento das primeiras referências do mosaico, motivou a migração da cultura, que inicialmente migrou para as regiões do oeste do Estado de São Paulo, depois para outros estados. Destacavam-se os Estados da Bahia e do Espírito Santo como os principais produtores, com cerca de 25.965 e 5.668 hectares de área plantada, respectivamente, nessa época (IBGE, 2001).

Segundo Rigotti (2014) economicamente, o mamão é amplamente cultivado para o consumo in natura e para uso em sucos, doces, geleias, frutas secas e cristalizadas. Nutricionalmente, é uma boa fonte de cálcio e uma excelente fonte de betacaroteno, vitamina A, C e do complexo B, fonte de sais minerais como cálcio, potássio e magnésio. Também tem vários usos industriais e farmacêuticos, suas folhas e frutos produzem diversas proteínas e alcaloides com importantes aplicações. Destes, no entanto, a papaína, uma enzima proteolítica particularmente importante que é produzida no látex leitoso de frutos de mamão verde tem variados usos, desde bebidas, aos alimentos, incluindo na produção de gomas de mascar, na indústria com amaciante de carnes, e aplicações farmacêuticas com preparo de drogas de várias doenças digestivas e no tratamento de feridas gangrenosas. Papaína também tem sido utilizada na indústria têxtil, para gomagem e amolecimento de seda e lã e na indústria de cosméticos, em sabonetes e xampu.

Entre as frutas cultivadas o mamão se destaca, sendo o país o segundo maior produtor do fruto situando-se entre os principais países exportadores, principalmente para o mercado europeu. Segundo a Empresa Brasileira de pesquisa agropecuária mandioca e fruticultura (EMBRAPA, 2016) a Bahia é o estado com maior produção de

mamão do país, correspondendo a 49,43% da produção com uma área colhida de 11.159 ha, com produção de 723.582 toneladas do fruto em 2015. Os números do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) mostram que frutas como banana e o mamão terão crescimento de 10% na produção, até 2025.

Atualmente há uma tendência de crescimento das exportações brasileiras de mamão, através de pesquisas e inovações tecnológicas empregadas na produção da cultura deverá assegurar a estabilidade e a maior rentabilidade da cultura, levando em consideração a sustentabilidade na produção.

2.2. Perdas pós-colheita

O Brasil é um dos países em que mais se perdem alimentos na pós-colheita, acarretando em um volume de exportação ainda pequeno, principalmente devido às perdas estimadas em 10 milhões de t/ano, correspondendo a 30 - 40% da produção segundo Benato (1999) apud Machado (2013). Conforme Chitarra (2005) as perdas pós-colheita podem ser definidas como aquelas que ocorrem após a colheita em virtude da falta de comercialização ou do consumo do produto em tempo hábil; ou seja, resultante de danos à cultura, ocorridos após a sua colheita, acumulada desde o local da produção, somando-se aos danos ocorridos durante o transporte, armazenamento, processamento e /ou comercialização do produto vendável.

As perdas podem ser classificadas em quantitativas, qualitativas e nutricionais. Perdas qualitativas e nutricionais, como valor calórico e aceitação pelos consumidores, são muito mais difíceis de avaliar do que perdas quantitativas. As causas primárias das perdas podem ser fisiológicas, fitopatológicas e por danos mecânicos (CHITARRA, 2005). As perdas fitopatológicas são resultado do ataque de microrganismos que causam o desenvolvimento de doenças, podem ser provocadas por fungos, bactérias e vírus. As perdas fitopatológicas podem deteriorar a aparência do produto levando a perdas qualitativas ou então levar a destruição total dos tecidos (CHITARRA, 2005).

Dantas et al (2003) realizou um trabalho quantificando as doenças fúngicas em mamões e laranjas, percebendo que ocorreu uma grande diversidade de doenças em frutos de mamão, onde as incidências variaram entre 39,71% e 0,07%. A diversidade de doenças constatada neste estudo sugere a necessidade do emprego de medidas

de controle mais efetivas durante as fases de produção e pós-colheita de frutos, visando propiciar redução das perdas.

O mamão é um fruto que se caracteriza por uma vida pós-colheita relativamente curta, completando o seu amadurecimento em poucos dias ou semanas; sendo também extremamente sujeito a perdas pós-colheita por injúrias mecânicas, patógenos ou por fatores abióticos (ALVES et al, 2003), o mamão possui a casca muito fina o que facilita pequenas lesões durante o manuseio, podendo também danificar o fruto o que facilita a infecção e atividades de patógenos.

Assim as perdas pós-colheitas na cultura do mamão pode ser um fator limitante na produção do fruto no país. Para reduzir as perdas pós-colheita, é importante que se conheçam e se utilizem práticas adequadas de manuseio durante as fases de colheita, armazenamento, comercialização e consumo. Dentro dessas práticas a busca por controle alternativo de doenças pós-colheita no mamoeiro através de óleos essenciais é uma ferramenta efetiva e economicamente viável de produção.

2.3. Antracnose no mamoeiro

A principal doença pós-colheita do mamoeiro é a antracnose, sendo a podridão mais comum em frutos maduros, o agente causal da antracnose é o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. O patógeno pertence à classe dos fungos Imperfeitos, ordem *Melanconiales*, família *Melanconiaceae*. (GALLI, 1980). O *Colletotrichum gloeosporioides* Penz é o agente etiológico de maior incidência, seguido por *P. caricae-papaye*, quando relacionados à podridão peduncular NERY et al (2007) apud RAMOS (2014). Tem maior incidência na maturação, mas a infecção geralmente é iniciada no campo, durante os primeiros estádios de desenvolvimento dos frutos, permanecendo o patógeno quiescente até a fase climatérica do fruto, quando são visíveis os sintomas ALVAREZ (1983) apud ALVES et al (2003).

A antracnose é uma doença pós-colheita de maior ocorrência em regiões com clima tropicais atingindo diversas fruteiras como, por exemplo, a banana (*Musa ssp.*), manga (*Mangifera indica* L.), caju (*Anacardium occidentale* L.) e o mamão (*Carica papaya*) LIMA et al (2003) apud RAMOS (2014). Das fruteiras tropicais o mamão é o mais atingido pela antracnose.

A doença pode ser classificada de duas formas, antracnose latente tendo como origem a infecção quiescente onde o patógeno penetra o fruto quando ainda estão verdes, permanecendo, nos mesmos até que sobrevenham condições favoráveis que se dá pelo amadurecimento dos frutos e a não latente onde o patógeno invade os frutos ainda verdes por meio dos ferimentos causados nos mesmos, quer sejam por insetos ou mecanicamente durante o transporte PINHO et al (2010) apud RAMOS (2014).

O fungo forma acérvulos subepidérmicos com setas escuras, conidióforos cilíndricos com conídios hialinos unicelulares, de forma cilíndrica á elipsoidal, com as extremidades arredondadas, ou a base truncada, numerosos e aglutinados, formando uma massa gelatinosa de coloração rósea. (ALVES et al, 2003). Na fase perfeita ainda não constatada entre nós, corresponde ao fungo Ascomiceto *Glomerella cingulata*, da ordem *Sphaeriales*, família *Sphaeriaceae*. Esta mesma espécie de *Colletotrichum gloeosporioides* é descrita por vários autores como causando podridões também em manga, abacate, citros, morango, tomate, maçã, banana e etc. (GALLIS, 1980).

O fungo pode, inicialmente, se estabelecer em flores, penetrando pelo estigma e pelas cicatrizes deixadas pelas pétalas e, principalmente, por ferimentos na superfície dos tecidos. Nos frutos, a infecção por *C. gloeosporioides* pode ocorrer em qualquer estágio de desenvolvimento e permanecer quiescente até que os frutos se tornem maduros, podendo a penetração ser de forma direta, através de infecção ou por ferimentos segundo ALVARES (1983) apud ALVES et al (2003).

Conforme Galli et al (1980) inicialmente a doença se apresenta como pequenos pontos escuros sobre a superfície do fruto, com o decorrer do tempo, os pontos de infecção aumentam em tamanho formando manchas deprimidas que chegam a atingir até 5 cm de diâmetro. Nos bordos da lesão forma-se um halo de tecido aquoso com coloração diferente da parte central da mancha. Quando em grande número as manchas podem coalescer formando extensas áreas de tecidos apodrecidos.

Segundo Alves et al (2003) as lesões nos frutos são arredondadas e profundas, com a evolução das lesões, observa-se um crescimento róseo disposto em camadas concêntricas, de aspecto gelatinoso, o qual posteriormente se torna escuro, e constituído das estruturas reprodutivas do fungo. As lesões podem coalescer, formando uma grande área lesionada na superfície do fruto. Elas são profundas e desprendem-se facilmente dos tecidos saudáveis, deixando um buraco no fruto. Nos

demais tecidos da planta como pecíolos, formam-se lesões escuras com abundante formação de acérvulos e onde também se desenvolvem os peritécios da forma teliomórfica do fungo.

Conforme Alves et al (2003) as lesões nas folhas são menos frequentes e quando ocorrem são circulares, com bordos irregulares e o centro acinzentado, onde podem ser observadas “pontuações negras” que são as frutificações do fungo. Por vezes os fungos não penetram profundamente no parênquima do fruto, mantendo uma lesão superficial de cor marrom avermelhada com margens encharcadas. O fungo sobrevive de um ano para o outro nas lesões velhas dos frutos e das folhas, sobre a planta ou no solo (GALLIS, 1980).

Na agricultura atual é importante que se produza frutos de alta qualidade com menor utilização de agrotóxicos, pois além de promover um equilíbrio no ecossistema, também há benefícios para a saúde humana. Segundo Maia et al (2005) o uso constante de agrotóxicos pode provocar surtos da doença por tornar os patógenos mais resistentes, além do uso contínuo e intensivo de fungicidas pode causar um desequilíbrio no ecossistema por não atingir apenas o microrganismo alvo, diminuindo o controle biológico natural.

Ainda alguns agrotóxicos podem causar fitotoxidez no mamoeiro ou afetar no desenvolvimento da planta, em trabalho realizado por Filho (1996) observou que algumas moléculas químicas utilizadas no mamoeiro exerceram efeito sobre o tamanho da planta, número de folhas e leves sintomas necro-fitotóxicos foliares.

A colonização dos frutos por fungos pode produzir diversos efeitos que depreciam a qualidade do produto, buscar meios alternativos para o controle desses microrganismos além de reduzir as perdas pós-colheita, diminuir custos e aumentam a produção além de diminuir o uso indiscriminado de agrotóxicos.

2.4. Óleos essenciais

Os óleos essenciais são substâncias lipossolúveis, porém voláteis, que integram o metabolismo secundário das plantas, aquele, ao contrário do primário, não está diretamente relacionado com o processo de crescimento e desenvolvimento dos vegetais. Em geral, esses óleos são produzidos por estruturas secretoras especializadas, tais como pelos glandulares, canais oleíferos, células

parenquimáticas diferenciadas ou em bolsões que podem estar por todas as partes da planta. Assim sendo, eles são encontrados na parte aérea, nas flores, nas folhas, nos frutos, na madeira, nas cascas do caule, nas raízes, nos rizomas e nas sementes, ou seja, os óleos essenciais podem ser sintetizados por todos os órgãos das plantas: flores, folhas, caules, galhos, sementes, frutos, raízes, madeira e cascas da árvore e dos frutos BIZZO et al. (2009) apud MAIA et al (2005).

No entanto, os óleos essenciais não são “óleos” sob o aspecto físico químico afinal esses óleos possuem aspecto viscoso, não se evaporam com facilidade e são, na maioria das vezes, deliciosamente aromáticos, sendo assim os óleos essenciais recebem esse nome porque são hidrofóbicos e lipofílicos. GONÇALVES et al (2003) apud OLIVEIRA (2006).

Possui estrutura química geralmente complexa, um determinado óleo essencial pode ter cerca de trezentos componentes, cada qual com sua ação bioquímica, isso explica, em partes porque um determinado óleo pode agir contra um fungo e ao mesmo tempo conter ação calmante, outro exemplo é o fato de ser usado na produção de perfumes e de produtos de limpeza pesada. Por essas características é que os óleos são utilizados em diversos ramos da indústria, como cosmética, alimentícia, farmacêutica, médica e outras, movimentando um mercado em constante expansão. Entre os compostos secundários estão os alcaloides, flavonoides, saponinas e os óleos essenciais, que se constituem em substâncias químicas que exercem as funções de autodefesa e de atração de polinizadores WOLFFENBUTTEL (2007) apud MAIA et al (2005).

2.5. Atividade fungitóxica de óleos essenciais de plantas

Conforme Maia et al (2005) a fitoterapia é uma forma de controle de agentes etiológicos através da utilização dos metabólitos secundários produzidos pelas plantas, cerca de 30% das drogas prescritas no mundo são obtidas direta ou indiretamente de plantas e os óleos essenciais de plantas vem sendo usados no combate a fungos deterioradores há séculos, eles constituem os elementos voláteis em muitos órgãos vegetais, e estão relacionados com diversas funções necessárias à sobrevivência vegetal, exercendo papel fundamental na defesa contra microrganismos.

A maioria dos óleos essenciais possui algum grau de atividade antimicrobiana. Essa atividade é atribuída à ação das substâncias presentes em sua composição como os compostos fenólicos, monoterpenos e terpenóides GILLES et al (2010) apud MAIA et al (2005). Essa atividade biológica dos óleos essenciais e de seus constituintes pode atuar como agentes fungistáticos e/ou fungicida, dependendo das concentrações utilizadas. O mesmo óleo pode ser ativo contra um amplo espectro de espécies de microrganismos, porém as concentrações mínimas inibitórias podem variar, CAVACOB (2010) apud MAIA et al (2005).

Alguns autores discutem que a atividade antifúngica dos óleos essenciais testados advém, provavelmente, do resultado da penetração de quitina na parede das hifas, prejudicando a lipoproteína da membrana citoplasmática, levando a este extravasamento do citoplasma, bem como ao esvaziamento e murchamento das hifas, e presença de filamentos. ZAMBONELLI et al (2013) apud MAIA et al (2005).

Segundo Costa et al. (2011) avaliando o efeito do óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) sobre as hifas de *Rhizoctonia solani*, observaram diferentes alterações morfológicas, tais como a presença de vacúolos, desorganização dos conteúdos celulares, diminuição na nitidez da parede celular, intensa fragmentação e menor turgência das hifas.

Vários estudos têm comprovado o efeito fungitóxico de óleos essenciais de plantas. Nascimento et al (2008) avaliou o controle de doenças do mamoeiro utilizando óleos essenciais de urucum e algodão, sobre o *Colletotrichum gloeosporioides* os resultados observados foram um menor crescimento micelial, mostrando que o tratamento com óleos essenciais pode ser uma opção viável na substituição de agroquímicos.

Carnelossi et al (2009) avaliou, in vitro e in vivo, o controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da antracnose do mamão em pós-colheita, por óleos essenciais de *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus citriodora*, *Mentha arvensis* e *Artemisia dracunculus*, tendo-se observado a inibição total ou parcial do crescimento micelial e da esporulação deste fitopatógeno.

Souza et al (2001) estudou o efeito de óleos essenciais de eucalipto, copaíba, andiroba, babaçu, coco, Nim, semente de uva, amêndoa, hortelã e pau rosa, em diferentes concentrações sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, in vitro e em frutos de pimenta em pós-colheita. Pode-se observar que no experimento in vitro todos

os óleos, com exceção dos óleos de babaçu, semente de uva e amêndoa, tiveram excelentes resultados inibindo o crescimento do fungo.

Ramos (2014) avaliou o uso de treze óleos essenciais sobre o *Colletotrichum gloeosporioides in vitro*, dentre esses óleos o óleo de Copaíba e Nim obtiveram excelente resultados. O teste de comparação múltipla forneceu dados que pressupõem maior eficácia dos óleos de melaleuca (-99,2%), copaíba (-99,4%), capim limão (-98,7%) e Nim (-99,9%), sendo que esses óleos apresentaram maiores reduções da contagem microbiana.

Com base em estudos realizados os óleos essenciais possuem algum grau de atividade antimicrobiana. Utilizar esses óleos como método alternativo de controle de doenças pós-colheita do mamoeiro é uma alternativa viável para a substituição de agrotóxicos, reduzindo o custo de produção e reduzindo os prejuízos trazidos por esses patógenos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia JCO Indústria e Comércio de Fertilizantes no mês de Junho de 2018. A área se localiza em Barreiras - BA (Latitude 12°08'37.3"S Longitude 44°57'48.3") a 483 metros de altitude.

O clima da região é classificado segundo Köppen como do tipo tropical úmido (Aw), com estação chuvosa no verão e seca no inverno, com temperatura média de 24,3°C e umidade relativa do ar em média 67,8% e precipitação anual em torno de 1121,8 mm, EMBRAPA (1988).

O fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, foi obtido da micoteca do JCO Indústria e Comercio de Fertilizantes, localizada no município de Barreiras/BA. As colônias foram cultivadas em placa de *Petri* contendo meio BDA (batata – dextrose – ágar) e mantidas na BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio), foram submetidas às repicagens periódicas para serem utilizadas nos ensaios.

Os óleos essenciais de Copaíba (*Copaifera langsdorffii*), Nim (*Azadirachta indica*), Alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e Menta (*Mentha*) foram adquiridos em casas comerciais de produtos naturais, no comércio de Barreiras-BA.

3.2 Métodos

3.2.1 Determinação da inibição do crescimento micelial

Os tratamentos utilizados foram óleos essenciais de Copaíba, Nim, Alecrim e Menta nas concentrações 0%, 0,2%, 0,4%, 0,6% e 0,8% para todos os óleos. A concentração de cada óleos foi determinada a partir de dados de pesquisa, Ramos (2014) determinou a concentração inibitória mínima (CIM) de diversos óleos essenciais, levando em consideração os dados de pesquisa juntamente com custo benefício de aplicação as concentrações foram definidas. Para verificar o efeito dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial e esporulação do fitopatógeno, 10 microlitros da solução dos óleos essenciais das plantas citadas anteriormente, foram colocadas em discos de papel no centro de placas de *Petri* contendo BDA. Após alguns minutos dois discos de 8 mm de diâmetro contendo micélio de *C.*

gloeosporioides foi repicado nas laterais das placas e suas bordas foram esterilizadas no fogo e vedadas com filme plástico, em seguida mantidas em sala de crescimento com temperatura de 25°C e luz constante. No controle não foi adicionado nenhum tipo de produto no disco de papel, QUEIROZ (2004). As avaliações foram realizadas por medições diárias do diâmetro das colônias (média de duas medidas diametralmente opostas), iniciando 72 horas após a instalação do experimento.

3.2.2 Determinação das concentrações de óleos essenciais sobre a germinação dos conídios

A atividade antifúngica das diferentes concentrações dos óleos essenciais foi avaliada microscopicamente, pela contagem de esporos que quantificou a inibição da germinação dos conídios do fungo. A suspensão de conídios foi obtida adicionando-se água destilada estéril às culturas fúngicas em placas de *Petri*. A concentração de esporos dessa suspensão foi determinada com auxílio de hemacitometro (câmara de *Neubauer*) e ajustada para 2×10^5 conídios/mL⁻¹.

As concentrações utilizadas de cada um dos óleos foram 0%, 0,2%, 0,4%, 0,6% e 0,8% em meio ágar-ágar, sendo que a testemunha consistiu apenas de placas contendo apenas o meio. Os óleos essenciais foram adicionados ao meio ágar-ágar a 45°C e em seguida vertidos em placa de *Petri*, onde, imediatamente após, foi adicionado 500µL da suspensão de conídios. As placas foram incubadas sob fotoperíodo de 9h e temperatura de 25°C. A avaliação foi realizada determinando-se a porcentagem de germinação de 100 esporos, 9h após o início da incubação, contando-se o número de esporos germinados e não germinados ao microscópio óptico em três diferentes pontos da placa de *Petri*, no aumento de 40x no microscópio JUNIOR et al (2009).

3.2.3 Delineamento experimental

Foi atribuído o delineamento inteiramente casualizado (DIC) com cinco repetições e cinco placas por parcela em arranjo fatorial 4 x 5, sendo o primeiro fator composto por quatro tipos de óleos essenciais: Copaíba (*Copaifera langsdorffii*), Nim

(*Azadirachta indica*), Alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e Menta (*Mentha*). Enquanto o segundo fator é formado por cinco concentrações de cada óleo essencial.

3.2.4 Análise Estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância, regressão e as médias comparadas por meio do teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para resultado da análise estatística foi atribuído o delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial 4 x 5 sendo o primeiro fator composto por quatro óleos essenciais e o segundo fator composto por cinco concentrações dos óleos. As variáveis foram submetidas a análise de variância e usado o teste *Tukey* a 5%, procedeu-se a análise de regressão por meio do programa de análises estatísticas SISVAR, FERREIRA (1999).

As concentrações dos óleos essenciais utilizados no experimento não exerceram sobre o crescimento micelial do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, o efeito de inibição do crescimento micelial, que seria expressado através da formação de um halo de inibição de crescimento dos micélios. Observou-se que houve um retardo no crescimento micelial na concentração de 0,8% de todos os óleos utilizados.

Para o óleo de alecrim houve um retardo no crescimento micelial até as 144h de avaliação, após esse período o crescimento se igualou as demais concentrações (Gráfico 1). O óleo de copaíba apresentou comportamento semelhante na concentração de 0,8% até as 120h de avaliação (Gráfico 2). Os óleos de menta e nim atuaram inibindo o crescimento micelial do fungo até as 96 horas de avaliação (Gráfico 3 e Gráfico 4). Concluindo que os óleos de apresentaram o mesmo comportamento, mostrando retardo no crescimento apenas até às 96h de avaliação,

Concluindo que para o óleo de alecrim e nim foi necessária a concentração de 0,8% para um retardo na inibição micelial. Para o óleo de menta a concentração que apresentou retardo no crescimento micelial foi de 0,6% e para o óleo de copaíba a concentração de 0,4% já apresentou efeito de retardo no crescimento micelial.

Como uma melhor ilustração, e para fim de comprovação da utilização do teste *Tukey*, abaixo estão os gráficos com a variância do crescimento de cada óleo essencial.

GRÁFICO 1: Inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* com diferentes concentrações do óleo de Alecrim.

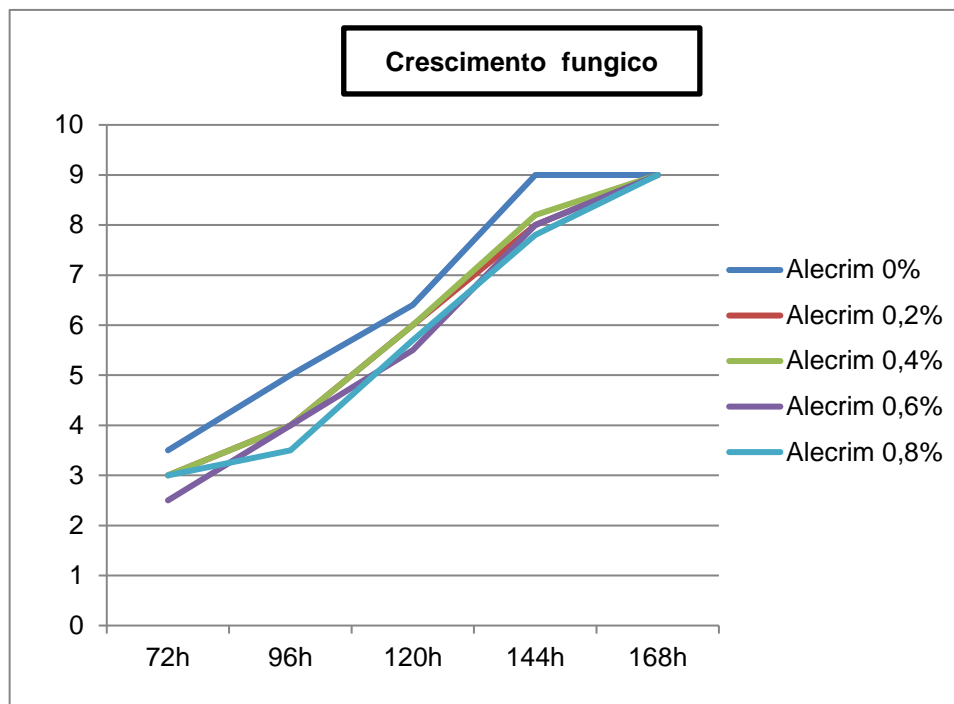


GRÁFICO 2: Inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* com diferentes concentrações do óleo de Copaíba.

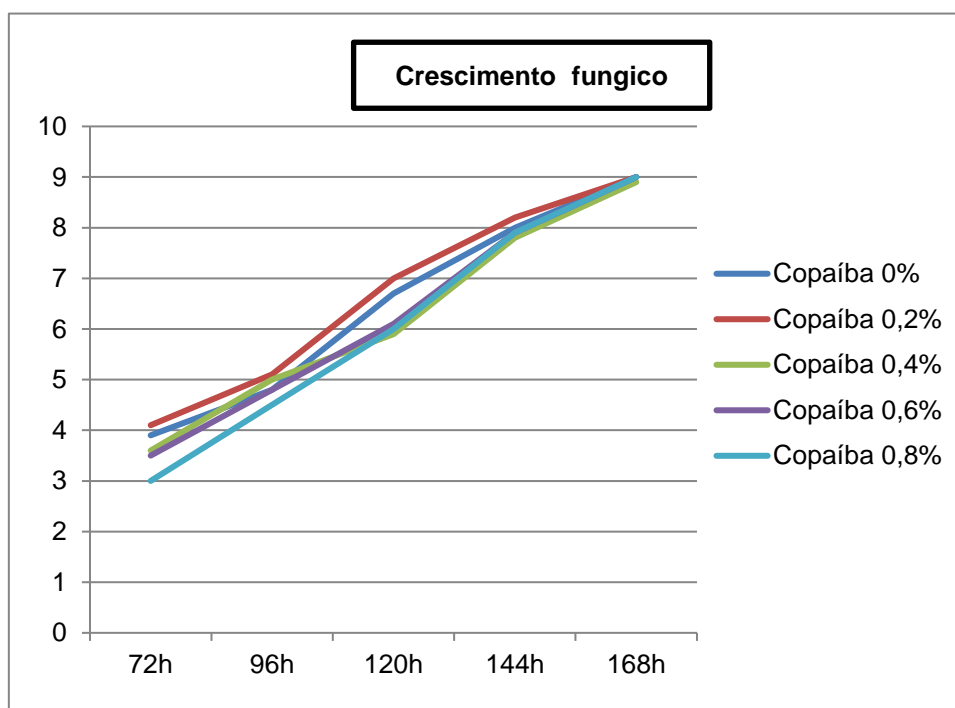


GRAFICO 3: Inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* com diferentes concentrações do óleo de Menta.

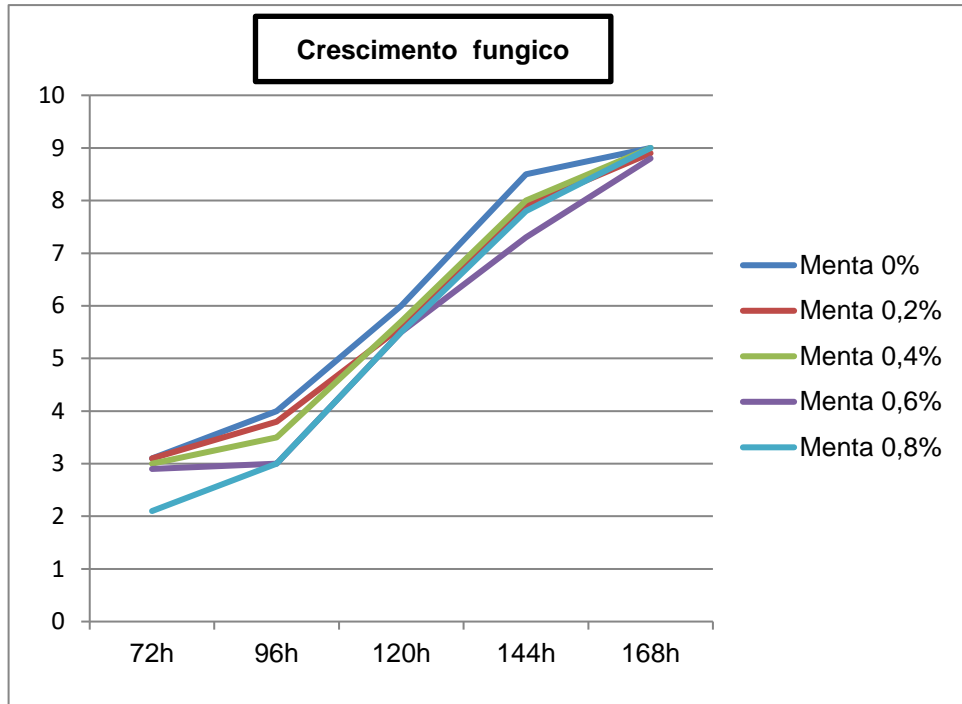
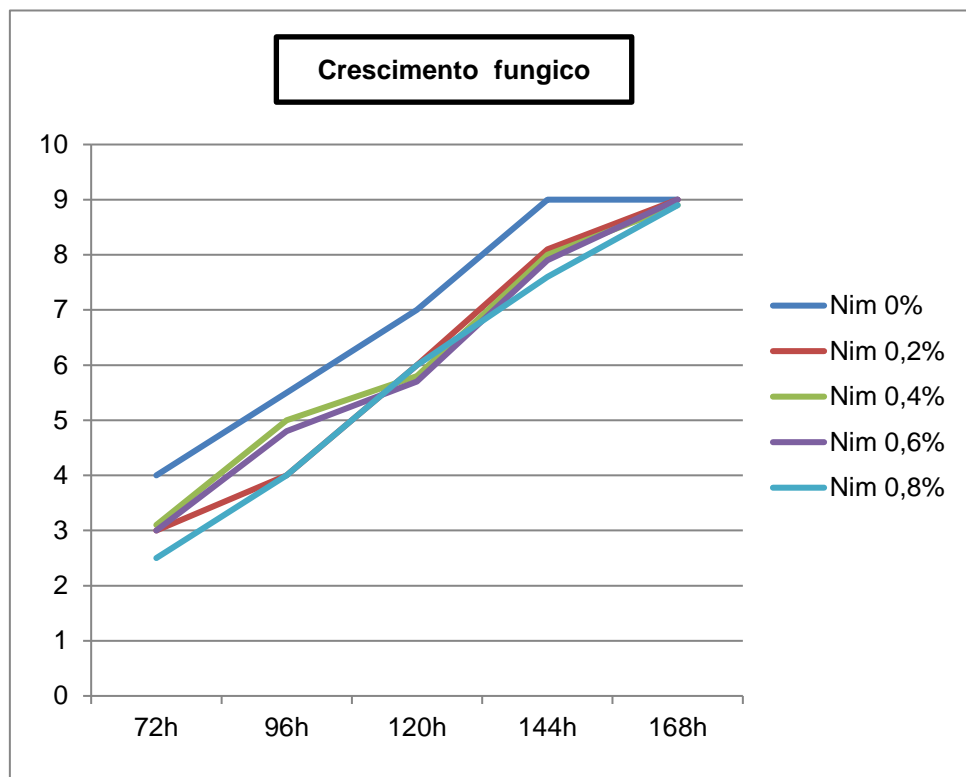


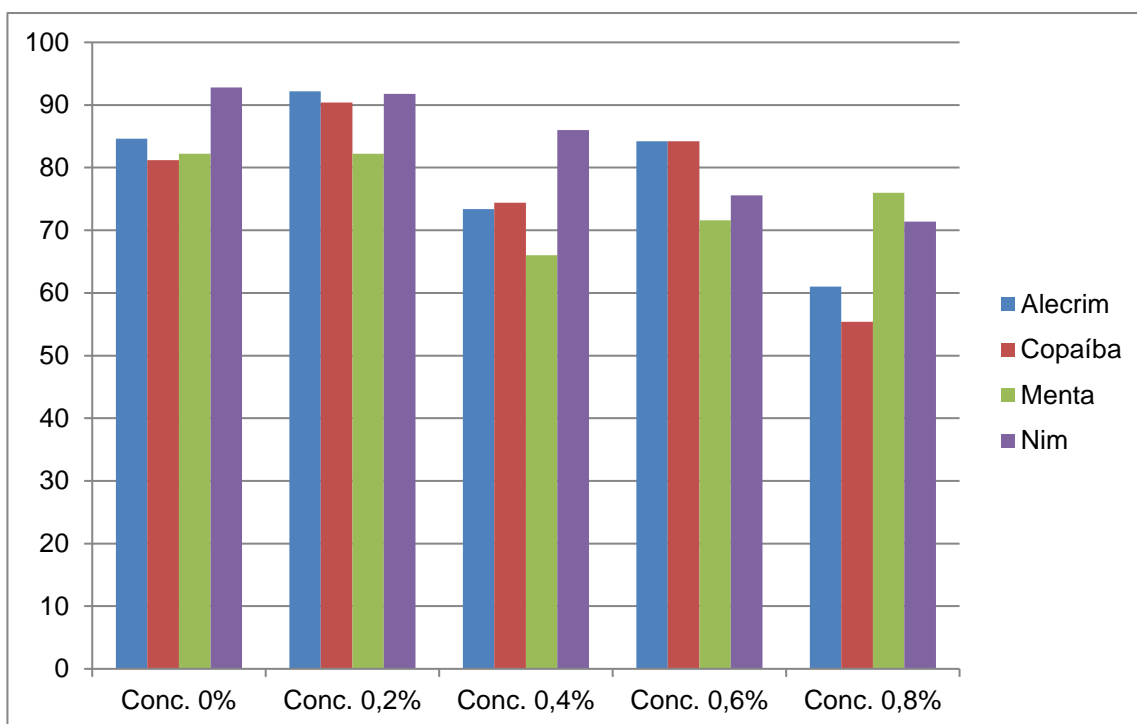
GRAFICO 4: Inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* com diferentes concentrações do óleo de Nim.



Na avaliação do efeito das concentrações de óleos essenciais sobre a germinação de esporos do fungo *C. gloeosporioides*, observou-se que, após 9 horas,

os óleos apresentaram uma inibição da germinação dos conídios. Tendo como maior inibidor o óleo de Copaíba na concentração de 0,8% reduzindo a germinação para 55,4%. O óleo que apresentou uma menor inibição da germinação dos conídios e, portanto o menos eficiente foi o óleo de Alecrim na concentração de 0,2% (Gráfico 5).

GRAFICO 5: Porcentagem de germinação dos conídios de *C. gloeosporioides* com diferentes concentrações dos óleos essenciais de diferentes espécies vegetais.



O conceito fungistático é amplo, engloba qualquer substância capaz de produzir uma alteração na estrutura da célula fúngica e que consiga inibir seu desenvolvimento, alterando sua capacidade de desenvolvimento. A atividade observada em extratos vegetais é, muitas vezes, atribuída a compostos orgânicos. As espécies vegetais possuem, simultaneamente, substâncias inertes e princípios ativos, cuja concentração dá-se, preferencialmente, nas flores, raízes ou folhas, e, em menor proporção, nos frutos e nas cascas. A concentração destes princípios também não é uniforme durante seu ciclo de vida, sendo influenciada pelo solo, habitat, colheita e preparação. A quantidade e a composição química dos óleos essenciais são influenciadas por diversos fatores, entre eles, a idade da planta, o tipo de tecido, o tipo de solo onde a planta é cultivada e o seu habitat, fatores climáticos, fatores genéticos e horários de coleta do material vegetal SILVA (2006). Os óleos essenciais para exercerem uma

ação sobre microrganismos precisam conter determinados compostos em sua composição que atuem diretamente sobre determinado microrganismo. Dentre os principais componentes ativos de óleos com efeito fungistático estão: ácido fenólico como o ácido rosmarínico, óleos essenciais (canfeno, pineno, cineol, borneol, cânfora) e taninos. Portanto alguns aspectos do óleo podem interferir no efeito do mesmo em relação ao microrganismo, podendo ou não exercer um efeito inibitório sobre crescimento micelial e germinação de conídios a depender da concentração de cada composto orgânico contido no mesmo.

Nos óleos utilizados no trabalho como Nim, Alecrim, Menta e Copaíba são óleos que normalmente em sua composição possuem compostos que atuam sobre o *C. gloeosporioides*, mas no presente trabalho não foi avaliada a composição química dos óleos e nem quantificada a concentração das mesmas. Portanto os óleos utilizados necessitariam de análise química para quantificar os compostos orgânicos presentes para determinar uma possível concentração inibitória mínima.

Assim, devido ao resultado obtido, o uso de óleos essências sobre o *C. gloeosporioides*, mais trabalhos deverão ser realizados, analisando quimicamente cada óleo e as concentrações dos compostos presentes, testando-se novas concentrações dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial e germinação de conídios, avaliando-se a atividade e estabelecendo concentrações inibitórias seguras dos óleos.

5 CONCLUSÃO

A partir dos resultados apontados, pode-se afirmar que os óleos exercem um retardo no crescimento micelial do fungo *Colletotrichum gloeosporioides penz* nas concentrações de 0,8% e o óleo de Copaíba na concentração de 0,8% reduz em 44,6% a germinação dos conídios a partir da influência que sua composição química, como citado anteriormente. Não houve efeito inibitório no crescimento micelial do fungo nas concentrações utilizadas.

REFERÊNCIAS

- ALVES, F. L. et al. **A cultura do mamoeiro, tecnologias e produções**. Vitória. Incaper, 2003. Disponível em: <<http://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/bitstream/item/924/1/Livro-A-Cultura-do-Mamoeiro-1.pdf>> Acesso em: 01 set. 2017.
- BALARDIN, R. 2015. **Fungicidas sistêmicos: benzimidazóis, triazóis e estrobilurinas**. Disponível em: <<https://phytusclub.com/materiais-didaticos/fungicidas-sistemicos-benzimidazois-triazois-e-estrobilurinas/>>. Acesso em: 26 de jun. de 2018.
- BASTOS, C. N. ALBUQUERQUE, S. B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotricum musae* em banana. 2004. **Fitopatologia Brasileira**, 29 (5): 555-557.
- CARNELOSSI, P. R. et al. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de plantas medicinais**. Botucatu, v.11, n.4, p.399-406, 2009. Disponível em: <http://www.sbpmed.org.br/download/issn_09_4/art_07_399_406.pdf> Acesso em: 06 set. 2017.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças**. Fisiologia e Manuseio. 2. ed. Lavras: FAEPE, 2005.
- COSTA, A. R. T. et al. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* L. sobre hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Recife, v. 13, n.2, p. 240-245, 2011.
- DANTAS, S. A. F. et al. Doenças fúngicas pós-colheita em mamões e laranjas comercializadas na Central de Abastecimento do Recife. **Fitopatologia Brasileira**. Recife, v.28, n.5, p.528-533, set-out. 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/fb/v28n5/17667.pdf> > Acesso em: 01 set. 2017.
- EMBRAPA. **Fichário de dados climáticos dos municípios**. 2. ed. Brasília, DF. EMVRAPA-SPI, 1988. Não paginado. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/fichario-climaticos-dos-municipios> > Acesso em: 10 dez. 2018
- FILHO, J. S. **Sensibilidade do mamoeiro (*Carica papaya* L.) a fungicidas**. 1996. 45p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Curso de pós-graduação em

Agronomia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1996. Disponível em: < http://repositorio.ufc.br/ri/bitstream/riufc/8515/1/1996_dis_jsilveirafilho.pdf > Acesso em: 16 set. 2017

GALLI, F. et al. **Manual de Fitopatologia**. Doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Agronômica Ceres LTDA, 1980.

MACHADO, R. M. A. et al. Óleos essenciais sobre o crescimento in vitro de fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. **Biologia e Saúde**. Campos dos Goytacazes, v.8, n.3, p.64-75, 2013. Disponível em: <http://seer.perspectivasonline.com.br/index.php/biologicas_e_saude/article/viewFile/147/80> Acesso em: 01 set. 2017.

MAIA, T. F. DONATO, A. FRAGA, M. E. Atividade antifúngica de óleos essenciais de plantas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. Campina Grande, v.17, n.1, p.105-116, 2015. Disponível em: <<http://www.deag.ufcg.edu.br/rbpa/rev171/Art171111.pdf>> Acesso em: 02 set. 2017.

NASCIMENTO, L. C. NERY, A. R. RODRIGUES, L. N. Controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamoeiro, utilizando extratos vegetais, indutores de resistência e fungicidas. **Acta Scientiarum. Agronomy**. Maringá, v.30, n.3, p.313-319, 2008. Disponível em: < <http://www.redalyc.org/html/3030/303026580003/>> Acesso em: 05 set. 2017.

OLIVEIRA, S. M. A. et al. **Patologia Pós-Colheita**. Frutas, Olerícolas e Ornamentais Tropicais. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006.

PEREIRA, M. C. VILELA, G. R. COSTA, L. M. A. S. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. 2006. **Ciência Agrotecnológica**, 30 (4): 731-733.

QUEIROZ, F. M. BATISTA, U.G. BROMMONSCHENKEL, S. H. Avaliação de meios de cultura no crescimento micelial e esporulação de *Alternaria brasiliensis*. *Fitopatologia Brasileira* 29: 541- 543. 2004.

RAMOS, K. **Óleos essenciais no controle de *Colletotrichum gloeosporioides***. 2014. 51p. Dissertação (Mestrado Ciências Ambientais) – Programa de pós-graduação em ciências ambientais, Universidade Camilo Castelo Branco, 2014. Disponível em: < <http://universidadebrasil.edu.br/portal/wp->

content/uploads/2016/11/%C3%93leos-essenciais-no-controle-de-Colletotrichum-gloeosporioides.pdf > Acesso em: 03 set. 2017.

RIGOTTI, M. **Cultura do mamoeiro**. São Paulo: CNPq, 2006. Disponível em: < <http://portaldahorticultura.xpg.uol.com.br/CulturadoMamoeiro.pdf> > Acesso em: 03 set. 2017.

SILVA, G. S. Substâncias naturais: Uma alternativa para o controle de doenças. 2006. **Fitopatologia Brasileira**, 31: 259.

SIMÃO, S. **Tratado de Fruticultura**. Piracicaba: FEALQ, 1998. (Série 1).

SOUZA, R. M. S. SERRA, M. R. S. MELO, T. A. Efeito de óleos essenciais como alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em pimenta. **Suma Phytopathologica**. Botucatu, v.38, n.1, p.42-47, 2012. Disponível em: < https://www.researchgate.net/profile/Thiago_Anchieta_De_Melo/publication/285420745_Efeito_de_oleos_essenciais_como_alternativa_no_controle_de_Colletotrichum_gloeosporioides_em_pimenta/links/576751fa08ae421c448c4a26.pdf > Acesso em: 02 set. 2017.