



Avaliação dos fermentados (botânicos) e do óleo essencial de *Eucalyptus Staigeriana* no controle do fungo fitopatogênico *Sclerotium rolfsii*



Estudantes: Maria Fernanda Gastaldon, Nicolli Rahde Fassbinder e Valesca Zanfonatto Cecatto

Orientador: Paulo Henrique Boff

Instituição: Centro Tecnológico Universidade de Caxias do Sul (Cetec)- Caxias do Sul, RS

Introdução

Muitos agricultores sofrem com a propagação de fungos, sendo um deles o *Sclerotium rolfsii*, que age sobre a alface cressa formando um "mofo-cinza". Ele tem como principal característica um emaranhado de micélio branco na base do vegetal, em restos de plantas e na superfície do solo. Devido aos escleródios produzidos, esse fungo é de difícil controle.

Desse modo, os óleos essenciais e fermentados botânicos vêm ganhando destaque e já mostraram eficácia no controle de certas doenças, além de serem menos agressivos aos vegetais, como forma de substituição do uso de agrotóxicos.

O problema do trabalho tem como origem o fungo *Sclerotium rolfsii*, que prejudica os vegetais, principalmente a alface. Portanto, a alternativa da maioria dos agricultores, por falta de opções é a aplicação de agrotóxicos em suas plantações, o que causa diversos problemas, entre eles, a contaminação do solo e o auxílio no surgimento de cepas multirresistentes.

O objetivo principal da pesquisa é avaliar a atividade antifúngica *in vitro* e *in vivo* de diferentes fermentados botânicos no desenvolvimento do fitopatogênio *Sclerotium rolfsii* assim como o óleo essencial do *Eucalyptus staigeriana*.

Materiais e Métodos

Local:
O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Controle Biológico de Doenças de Plantas – Laboratório de Agricultura Orgânica da Universidade de Caxias do Sul (UCS) - Caxias do Sul, no período de maio a setembro de 2022.

Isolado fúngico:
O fungo *Sclerotium rolfsii* (A60/19) foi isolado de alface com sintomas de mofo-branco em Caxias do Sul/RS.

Material vegetal:
O material vegetal, *Eucalyptus staigeriana* foi coletado na área da Universidade de Caxias do Sul (-29.163003, -51.145408). HUICS (54077).

Fermentado botânico e análise:
Os compostos fenólicos foram identificados de acordo com sua ordem de eluição e por comparação de seu tempo de retenção com aqueles de seus padrões puros. A análise foi feita em duplicata, sendo o resultado expresso em µg/mL de extrato.

Os fermentados de Eucalypto foram produzidos pela junção de 1,5 L de água não tratada e 500 g de planta fresca, (ramos finos e folhas), liquidificados até ficarem triturados. A fermentação ocorreu de maneira espontânea e aeróbica, mantida em ambiente escuro até cessar a fermentação, e agitada uma vez ao dia. Os compostos fenólicos dos fermentados foram analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC).

Atividade antifúngica dos fermentados botânicos:
Para verificar a atividade antifúngica dos fermentados botânicos, foram preparados meios de cultura BDA (Batata- Dextrose-Ágar) onde ainda fundente foram adicionados os fermentados botânicos nas concentrações de 0, 10, 20 e 40%, cuja 0% corresponde ao controle.

Os meios foram autoclavados a 121° C por 15 min. Os mesmos foram vertidos em placas de Petri, em cinco repetições, e após a solidificação do meio foi depositado no centro da placa um disco micelial de 5 mm do fungo com quatorze dias, previamente isolado. As placas foram vedadas e mantidas incubadas em câmaras tipo BOD, a temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas.

Foram medidos os diâmetros de crescimento micelial ao 3o, 7o e 14o dia após a inoculação, e com os dados obtidos foi determinada a porcentagem de inibição de crescimento (PIC) dos tratamentos em relação à testemunha.

Extração do óleo essencial:
O óleo essencial foi extraído por arraste a vapor durante 2 horas. A porcentagem relativa de cada componente foi obtida das áreas dos picos cromatográficos, assumindo que a soma de todos os picos eluídos é 100%.

Atividade antifúngica do óleo essencial:
As propriedades antifúngicas do óleo essencial foram avaliadas quanto ao seu efeito de contato sobre o crescimento micelial de fitopatógenos. O efeito da fase de contato do óleo essencial foi testado de acordo com Feng e Zheng (2007) com pequenas modificações. As concentrações de óleos essenciais utilizadas foram de 0, 10, 50, 100, 150 e 200 (microlitros/100mL), com adição de Tween 20 (1: 1), diluído em PDA (Potato Dextrose Agar) autoclavado e fundente (40°C) sob condições assépticas. O tratamento controle (0) foi apenas meio BDA. Essas emulsões foram vertidas em placas de Petri de 9 cm (Ø) e, após solidificação do meio, inoculadas com discos de ágar 5 mm (Ø) colonizados por micélio de *S. rolfsii* com quatorze dias de desenvolvimento (Silva, 2012).

Para cada concentração, foram utilizadas cinco placas replicadas. A incubação foi realizada a temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas, durante quatorze dias. Medidas ortogonais de diâmetro por desenvolvimento de fungo foram realizadas. O crescimento fúngico foi registrado no 3º, 7º e 14º dia por medição do diâmetro ortogonal.

Avaliação *in vivo*:
A avaliação *in vivo* da atividade fungitóxica do óleo essencial sobre o crescimento micelial de *S. rolfsii* foi realizada somente para os testes que apresentaram resultados de controle do patógeno nos testes *in vitro*.

O fungo depois de quatorze dias de crescimento foi utilizado para o teste *in vivo*. Para o preparo do inóculo, as placas foram lavadas com água destilada autoclavada, e com auxílio de uma alça de Drigalski foi retirado todo o micélio e os escleródios. Foi inoculado em cada muda de alface 100 microlitros da solução com o fungo.

Para cada tratamento foram utilizadas 5 plântulas de alface do tipo cressa. As mesmas adquiridas em comércio convencional. Estas foram transplantadas em vasos de 1L contendo substrato do tipo Beifort, após 7 dias do transplante foram iniciados os tratamentos.

T1: somente patógeno; T2: somente água;

Preventivos: O óleo essencial foi inoculado por aspersão 5 horas antes de inocular o fungo. T3: concentração do óleo: 50 microlitros/100mL de água destilada autoclavada, com adição de Tween 20 (1: 1). T4: concentração do óleo: 100 microlitros/100mL de água destilada autoclavada, com adição de Tween 20 (1: 1). T5: concentração do óleo: 150 microlitros/100mL de água destilada autoclavada, com adição de Tween 20 (1: 1). T6: concentração do óleo: 200 microlitros/100mL de água destilada autoclavada, com adição de Tween 20 (1: 1).

Curativos: O óleo essencial foi inoculado por aspersão 5 horas depois de inoculado o fungo. Nos tratamentos T7, T8, T9, T10, foram as mesmas concentrações utilizadas no preventivo. O teste *in vivo* realizado durou 44 (quarenta e quatro) dias.

Análise estatística:
Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade com auxílio do software AgroEstat.

Resultados

• **Ensaio dos óleos essenciais *in vitro*:** Os testes demonstraram a eficácia do óleo nas concentrações 0,05%, 0,10%, 0,150% e 0,200% após a análise dos quatorze dias, uma vez que apresentaram comportamento favorável a inibição do fungo.



Óleo essencial e suas devidas concentrações após os 14 dias de análise
Foto por Nicolli R. Fassbinder

• **Análise dos óleos essenciais *in vivo*:** Os tratamentos curativos T7 e T8 apresentaram os melhores resultados, tendo sido aplicadas as menores concentrações do óleo apresentado eficazmente (50 e 100 microlitros). Considerou-se o tamanho, peso e desenvolvimento das plantas sendo respectivamente 24 e 21 centímetros e 60 e 40 quilogramas, se comparado ao T1 caracterizado por 16 centímetros e 20 quilogramas (somente patógeno).



Da esquerda para a direita, respectivamente, T7, T1 e T8
Foto por Nicolli R. Fassbinder

• **Ensaio dos fermentados botânicos *in vitro*:** Os testes não demonstraram a eficácia dos fermentados nas concentrações de 10% 20% e 40% após a análise dos quatorze dias.



Fermentados botânicos e suas devidas concentrações após os 14 dias de análise
Foto por Nicolli R. Fassbinder

Conclusão

Os fermentados botânicos não mostraram-se eficazes no controle do fungo. Já os óleos essenciais apresentaram resultados positivos nas concentrações 0,05%, 0,10%, 0,150% e 0,200% no ensaio *in vitro* e o T7 (método curativo com 50 microlitros/100mL de água destilada autoclavada, com adição de Tween 20) e T8 (método curativo com 100 microlitros/100mL de água destilada autoclavada, com adição de Tween 20) na análise *in vivo*.

Referências

- AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos. Piracicaba: Ceres, 2018. v.1, 573 p.
- BELAICHE, T., TANTAQUI-ELARAKI, A., IBRAHIMY, A. Application of a two levels factorial design to the study of the antimicrobial activity of three terpenes. Sciences Aliments. Vol. 15, p. 571-578, 2005.
- Bettiol, W. & Morandi, M. A. B. (Eds.) Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. ISBN: 978-85-85771-47-8
- BETTIO, W.; TRATCH, R.; GALVÃO, J.A.H. Controle de doenças de plantas com biofertilizantes. Circular Técnica, Centro Nacional de Pesquisa do Meio Ambiente. Embrapa, Jaguariúna, São Paulo. Vol. 2, p. 1-22, 1997
- BIZZO, H.; HOVELL, A.; REZENDE, C. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. Quim. Nova, Vol. 32, No. 3, 588-594, 2009.
- CARVALHO, E. R.; OLIVEIRA, J. A.; REIS, L. V.; FERREIRA, T. F. Mn foliar sobre a qualidade sanitária e lignina de sementes de soja convencional e resistente ao glifosato. Revista Ciência Agronômica. Vol. 46, p. 135 - 143, 2015.
- COSTA, B.; PANSERA, MR.; SARTORI, VC. Avaliação de fermentados botânicos no controle de Colletotrichum fructicola isolado de Acca sellowiana. Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento, [S. l.], v. 10, n. 5, pág. e48910515116, 2021.
- COSTA-SILVA, T. A.; SOUZA, C. R. F.; OLIVEIRA, W. P.; SAID, S. Characterization and spray drying of lipase produced by the endophytic fungus Cercospora kikuchii. Brazilian Journal of Chemical Engineering. Vol. 31, p. 849-858, 2014.
- ETHUR, L.Z.; BLUME, E.; MUNIZ, M.; DA SILVA, A.C.F.; STEFANELLO, D.R.; DA ROCHA, E.K. Fungos antagonistas a Sclerotinia sclerotiorum em pepineiro cultivado em estufa. Fitopatologia Brasileira. Vol. 302, p. 127-133, 2005.
- Guenther, E.; The Essential Oils, D. Van Nostrand Company Inc: New York, 1950, vol. IV.
- Marcuzzo, L.L.; Schuller, A. Sobrevivência e viabilidade de escleródios de *Sclerotium rolfsii* no solo. Summa Phytopathologica, v.40, n.3, p.281-283, 2014
- SILVA, E.; FERREIRA, R.; NETO, S.; TAVELLA, L.; SOLINO, A. Qualidade da alface cressa em sistema orgânico, convencional e hidropônico. Horticultura Brasileira 29: 242-245.
- TRIACA, T.; PANSERA, M. R.; ANDREOLLA, M. L.; VENTURIN, L.; SARTORI, V. C. Avaliação *in vivo* do fermentado botânico de Ilex paraguariensis frente ao fungo *Sclerotinia sclerotiorum* no cultivo de alface cressa. Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia, Guarapuava-PR, v.11, n.1, p.51-58, jan-abr., 2018. DOI: 10.5935/PAet.V11.N1.06