

INTRODUÇÃO

O fungo *Botrytis cinerea*, popularmente conhecido como mofo cinzento tem sido um grande problema nas videiras, pois manifesta-se nos órgãos herbáceos (folhas, ramos, inflorescências), nas estacas e cachos, provocando a podridão peduncular, que é manifestada no pedúnculo e no engajo, dando origem ao **murchamento** e, frequentemente, à queda do fruto antes da colheita. Sua ação sobre a videira gera grandes prejuízos para os viticultores e vitivinicultores, causando significativas reduções na qualidade e quantidade das uvas (Garrido & Sónego, 2005). Os óleos essenciais são uma alternativa viável para controle dos agentes fitopatogênicos, pragas agrícolas e plantas infestantes, visto seu **potencial antifúngico** e compostos majoritários que apresentam **atividade bioativa** e fungistática sobre os microrganismos (Ootani M.A., et al, 2013). Diante dos conhecimentos já adquiridos a respeito das propriedades do Ho-Sho, considerou-se a realização de um experimento in vitro, visando confirmar o potencial antifúngico do óleo essencial de Ho-Sho sobre o mofo cinzento.

Problema de pesquisa: O óleo essencial de Ho-Sho (*Cinnamomum camphora* de variedade linalolifera) **exibe potencial como meio alternativo para o combate do mofo cinzento (*botrytis cinerea*) nas videiras de uva?**

Hipóteses: **1° hipótese:** O óleo essencial de Ho-Sho (*Cinnamomum Camphora* Ho-Sho) inibirá o crescimento do *botrytis cinerea* completamente.

• **2° hipótese:** O óleo essencial de Ho-Sho (*Cinnamomum Camphora* Ho-Sho) reduzirá o crescimento fúngico de acordo com a concentração de óleo aplicada.

• **3° hipótese:** O óleo essencial de Ho-Sho (*Cinnamomum Camphora* Ho-Sho) não causará efeito sobre o fungo *botrytis cinerea*.

Objetivo:

OBJETIVO GERAL: Analisar a eficiência do óleo essencial de Ho-Sho sobre o mofo cinzento (*botrytis cinerea*).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- produzir o óleo essencial de Ho-Sho (*Cinnamomum Camphora* variedade linalolifera).
- Realizar o teste de eficiência do óleo essencial de Ho-Sho sobre o fungo de forma in vitro.
- Comparar os resultados e suas respectivas concentrações de óleo essencial.



Figura 1- Inoculação do fungo



Figura 2- Hidrodestilação por aparelho Clevenger

METODOLOGIA

Caracterização da pesquisa: Pesquisa quantitativa e aplicada. Pesquisa explicativa e pesquisa experimental. Pesquisa- Ação.

Descrição dos procedimentos – materiais e métodos

3.1. LOCAL E DATA: 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 junho a julho de 2023.

3.2. PREPARAÇÃO DOS APARELHOS CLEVENGER: Foram acoplados quatro aparelhos clevenger a quatro balões de fundo redondo, os quais foram inseridos em mantas de aquecimento. Para condensação, foi empregado um condensador cujo fluxo de água passava por um sistema de resfriamento para que houvesse reutilização da água.

3.3. HIDRODESTILAÇÃO: O material vegetal total foi pesado e distribuído entre os balões de fundo redondo, com cada um desses ficando com 200g de folhas de Ho-Sho. Foi adicionada água até a metade dos balões, a fim de que o vegetal ficasse em contato com esta, assim permitindo a difusão dos compostos voláteis. Após isso, as mantas térmicas foram ligadas, bem como o sistema de resfriamento da água do condensador. Aguardou-se a condensação da primeira gota de óleo essencial no bulbo de todos os aparelhos Clevenger. Após isso, foi observada a hidrodestilação durante uma hora e, então, foram desligadas as mantas térmicas.

3.4. ANÁLISE CROMATOGRÁFICA: Para identificação e quantificação dos compostos do óleo essencial, foi utilizado o protocolo descrito em Santos et al. (2009) usando um cromatógrafo de gás HP 6890, As análises foram conduzidas usando uma coluna capilar de sílica fundida HP-Innowax (30 m x 0,25 mm d.i., 0,25 µm de espessura de filme, Hewlett Packard, Palo Alto, EUA). A percentagem relativa de cada componente foi obtida das áreas dos picos cromatográficos, assumindo que a soma de todos os picos eluídos é 100%. **COMPOSTOS DO ÓLEO:** O composto majoritário é o linalol com 88,39%, seguido do b-cariofileno 1,67%, óxido de cariofileno 0,55% e g-elemeno 0,42%.

3.5. PREPARAÇÃO DOS MEIOS DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES: 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 (60°C) sob condições assépticas em capela de fluxo laminar. O tratamento controle (0) foi apenas meio BDA. Além do óleo essencial, foi realizado o teste com o composto majoritário: linalol (0,8%). A adição dos pequenos volumes de óleo essencial foi possível com o uso de uma micropipeta com ponteira descartável. Essas emulsões foram vertidas em placas de Petri de 9 cm (Ø).

3.6. INOCULAÇÃO DO FUNGO: Após solidificação do meio, inoculadas com discos de ágar 5 mm (Ø) colonizados por micélio de *Botrytis cinerea* com quatorze dias de desenvolvimento (Silva, 2012). Os discos de ágar colonizados foram inoculados com o uso de uma agulha, esterilizada por flambagem em bico de Bunsen após cada inoculação, no centro da placa de Petri.

3.7. INCUBAÇÃO: A incubação foi realizada à temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas, durante quatorze dias.

3.8. MEDIÇÃO DOS RESULTADOS: Medidas ortogonais de diâmetro por desenvolvimento de fungo foram realizadas com auxílio de um paquímetro digital. O crescimento fúngico foi registrado no 3º, 7º e 14º dia por medição do diâmetro ortogonal. O efeito antifúngico da fase de contato do óleo essencial foi testado de acordo com Feng e Zheng (2007) com pequenas modificações

RESULTADOS DE DISCUSSÃO

Em ordem alfabética são comparados, de melhor a pior (de modo que A represente o melhor resultado). As letras em caixa alta comparam a eficiência de inibição do crescimento micelial entre as diferentes concentrações de óleo essencial. Já as letras em caixa baixa comparam os dados da coluna, ou seja, comparam a eficiência do óleo essencial em controlar o crescimento do fungo ao longo do tempo.

DIAS (avaliação)	INIBIÇÃO (%)						
	CONCENTRAÇÕES						
	0	linalol	0,01	0,05	0,10	0,15	0,20
3º	38,3 Da	100 Aa	57 Ca	88,3 Ba	100 Aa	100 Aa	100 Aa
7º	0 Db	100 Aa	17,9 Cb	55 Bb	51 Bb	100 Aa	100 Aa
14º	0 Db	100 Aa	0 Dc	26,2 Cc	35,8 Bc	100 Aa	100 Aa

(CV = 3,41).

As concentrações de 0,01 e 0,05 (representando 10µL/100mL e 50µL/100mL) apresentaram baixa eficiência em comparação com as outras placas, já que foi constatada, na medição efetuada no 14º dia, a não-inibição total do crescimento micelial. A concentração de 0,10 (100µL/mL) do óleo essencial denotou um **efeito moderado** sobre o fungo. No terceiro dia, não houve crescimento micelial, porém, no sétimo e décimo quarto dia, houve crescimento, havendo, entretanto, inibição moderada do crescimento do fungo. As concentrações de 150 e 200 (µL/mL) e o linalol puro inibiram em 100% o desenvolvimento micelial durante o período analisado.

CONCLUSÃO

Observou-se que o fungo *Botrytis cinerea*, em contato com o óleo essencial do Ho-Sho apresentou **baixo crescimento** em comparação com o grupo controle, sendo a inibição do fungo diretamente proporcional à concentração de óleo essencial utilizada no meio, com o linalol puro e as concentrações de 0,15 e 0,20 (µL/mL) inibindo completamente o crescimento do mofo cinzento.

Constata-se, então, que o Ho-Sho, além de possuir efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios, como conceituado por vários autores, também apresenta **potencial antifúngico** sobre o fungo *Botrytis cinerea*. Os resultados obtidos são, certamente, benéficos, pois, o fungo em questão é causador de muitos **problemas nas videiras**, principalmente na Serra Gaúcha, conseqüentemente, afetando a economia dos viticultores por prejudicar a qualidade, quantidade das uvas e as vendas.



Figura 3- Foto comparativa das diferentes concentrações.



Figura 4- Placas de Petri de concentração 1%

REFERÊNCIAS

- CAMILI, E. C. et al. Avaliação de quitosana, aplicada em pós-colheita, na proteção de uva "Itália" contra *Botrytis cinerea*. **Summa phytopathologica**, v. 33, n. 3, p. 215–221, 2007.
- CANSIAN, R. L. et al. Atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de ho-sho (*Cinnamomum camphora* Ness e Eberm Var. Linaloolifera fujita). **Food Science and Technology**, v. 30, n. 2, p. 378–384, 2010.
- CHAVARRIA, G.; SANTOS, H. P. DOS. Manejo de videiras sob cultivo protegido. **Ciência rural**, v. 39, n. 6, p. 1917–1924, 2009.
- FILIPPIS, F. M. DE. Extração com CO2 supercrítico de óleos essenciais de Hon-sho e Ho-sho : experimentos e modelagem. 2001
- RIBEIRO, J. G.; SERRA, I. M. R. DE S.; ARAÚJO, M. U. P. Uso de produtos naturais no controle de antracnose causado por *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Summa phytopathologica**, v. 42, n. 2, p. 160–164, 2016.
- 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. **Ciencia rural**, v. 38, n. 2, p. 301–307, 2008
- WILLIAMSON, B. et al. *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. **Molecular plant pathology**, v. 8, n. 5, p. 561–580, 2007.
- ZAFFARI, E. A.; BORBA, R. S. Levantamento dos Principais Fungicidas e Inseticidas Comercializados pelas Agropecuárias de Bento Gonçalves para Utilização na Cultura da Videira. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 15, n. 4, p. 385–390, 2016.