

## **Controle alternativo de *Sclerotinia sclerotiorum* (LIB.) de Bary causador do mofo branco de alface (*Lactuca sativa*).**

**Marcia Regina Pansera<sup>1</sup>; Camila Bonatto Vicenço<sup>1</sup>; Jaqueline Tragansin<sup>1</sup>; Aline Gasparetto<sup>1</sup>; Valdirene Camatti Sartori<sup>1</sup>; Rute Teresinha da Silva Ribeiro<sup>1</sup>**

Universidade de Caxias do Sul. Centro de Ciências Agrárias e Biológicas. Instituto de Biotecnologia. Laboratório de Controle Biológico de Doenças de Plantas. Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130, Bairro Petrópolis, CEP. 95070-560. Caxias do Sul/RS – Brasil. E-mail: [marcia.pansera@ucs.br](mailto:marcia.pansera@ucs.br); [camila\\_bonatto@hotmail.com](mailto:camila_bonatto@hotmail.com); [jaque.trg@hotmail.com](mailto:jaque.trg@hotmail.com); [alinegasparetto71@hotmail.com](mailto:alinegasparetto71@hotmail.com); [ycsartor@ucs.br](mailto:ycsartor@ucs.br); [rute.bio@gmail.com](mailto:rute.bio@gmail.com)

### **RESUMO**

O patógeno *Sclerotinia sclerotiorum* é um fungo que sobrevive no solo, produz escleródios e causa a doença conhecida como mofo branco na cultura da alface (*Lactuca sativa*), para a qual o controle químico não é eficiente e causa poluição ao ambiente. Buscam-se portanto, métodos alternativos, sendo que os extratos vegetais e óleos essenciais podem ter potencial. Neste trabalho, avaliou-se *in vitro* e *in vivo* o efeito do óleo essencial de ho-sho (*Cinnamomum camphora* Nees & Eberm var. linalolifera) nas concentrações 0,01; 0,05; 0,1; 0,15 e 0,2% e os extratos vegetais de anis estrelado (*Ilicium verum*), tuia limão (*Cupressus macrocarpa*) e samambaia do mato (*Peteridium aquilinum*) a 5, 10, 15 e 20%. *In vitro*, o óleo essencial inibiu o crescimento micelial do patógeno a partir da concentração de 0,05% e *in vivo*, na concentração de 0,2%. Os extratos não inibiram *S. sclerotiorum*.

**PALAVRAS CHAVE:** Controle alternativo de doenças, Óleos essenciais, Efeito antifúngico.

### **ABSTRACT**

**Alternative control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary causes white mold of lettuce (*Lactuca sativa*).**

The fungus *Sclerotinia sclerotiorum* is a fungus that survives in soil, produces sclerotia and causes the disease known as white mold on lettuce (*Lactuca sativa*), for which chemical control is not efficient and cause pollution to environment. It seeks therefore, alternative methods, and the plant extracts and essential oils may have potential. This study evaluated *in vitro* and *in vivo* effect of essential oil of ho-sho (*Cinnamomum camphora* Nees & Eberm linalolifera variety) and the extracts of star anise (*Ilicium verum*) thuja lemon (*Cupressus macrocarpa*) and fern bush (*Peteridium aquilinum*), with possible potential antifungal activity against the pathogen *S. sclerotiorum*. The

essential oil was tested at 0.01, 0.05, 0.1, 0.15 and 0.2% and the crude aqueous extract at 5, 10, 15 and 20%. *In vitro* tests, the essential oil inhibited the growth of the pathogen at concentrations of 0.05% and *in vivo* caused inhibition at 0.2%.

**KEY WORDS:** Alternative control of diseases, Essential oils, Antifungal effect.

## INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) está entre as dez hortaliças mais apreciadas no Brasil (RODRIGUES, 2007). Entretanto, esta cultura apresenta várias doenças dentre as quais destaca-se o mofo branco causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary, um patógeno que sobrevive no solo e pode atacar a planta em qualquer estágio de desenvolvimento (KUHN, 2006). Para o controle desta doença têm sido propostos métodos alternativos aos fungicidas tradicionais (SCHWAN-ESTRADA, 2003). Entre as alternativas propostas, o efeito dos óleos essenciais e extratos vegetais, que atuam como fungicidas naturais inibindo a atividade fúngica, tem sido comprovado (ATTI-SANTOS, 2010). Desta forma, o presente trabalho teve por objetivo, avaliar *in vitro* e *in vivo* o efeito do óleo essencial de ho-sho (*Cinnamomum camphora* Nees & Eberm variedade linalolifera), e dos extratos vegetais de anis estrelado (*Ilicium verum*), tuia limão (*Cupressus macrocarpa*) e samambaia do mato (*Pteridium aquilinum*) com possível potencial antifúngico contra o patógeno *Sclerotinia sclerotiorum*.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Microrganismo:** *S. sclerotiorum* foi isolado de alface com sintomas de mofo-branco.

**Óleo essencial:** Folhas de ho-sho foram coletadas no Município de Caxias do Sul (S / 29°09'78,0" e W / 51°08'65,9") e desidratadas. A extração foi por hidrodestilação em Clevenger e a cromatografia em GC (HP 6890) e GC/MS (HP 6890/MSD5973, equipado com espectroteca Wiley 275).

**Extratos Bruto Aquoso (EBA):** Folhas frescas foram trituradas com água destilada e os homogenatos filtrados em filtros de acetato de celulose de porosidade 0,45 e 0,22µm.

**Avaliação *in vitro* da atividade biológica do óleo essencial e dos extratos vegetais sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*:** O meio de cultura BDA foi aliquotado e enriquecido com o óleo nas concentrações 0,01; 0,05; 0,1; 0,15 e 0,20% ou com os extratos, a 5, 10, 15 e 20%. O meio foi plaqueado, e um disco (0,5cm de diâmetro) de ágar colonizado de *S. sclerotiorum* foi transferido para o centro de cada placa. O tratamento testemunha, continha apenas o meio BDA. As placas foram incubadas em BOD, a 25°C, por 7 dias. As avaliações foram feitas nos 3º, 7º e 14º dias de incubação através das medidas dos diâmetros da colônia do fungo. Os dados foram analisados

pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o Graphpad Prism 4.0.

**Material vegetal:** Foram usadas sementes da var. Crespa Grand Rapids -TBR/ISLA PAK/Brasil.

**Avaliação *in vivo* da atividade biológica do óleo essencial sobre o desenvolvimento da mofo branco na alface:** Os experimentos foram realizados ambiente protegido, e somente com os melhores resultados obtidos *in vitro*. Cinco mL de uma suspensão aquosa com propágulos do fungo foi misturado à 100 g de arroz umedecido e esterilizado. Depois de sete dias a 28° C, o arroz colonizado foi incorporado ao substrato de enraizamento das plantas, onde as plântulas de alface, com 15 dias de idade, foram transplantadas. Tratamento A: logo após o transplante, o óleo foi aplicado nas concentrações de 0,05 a 0,20%. Controle 1: Solo livre de patógeno. Controle 2: Solo com patógeno. Os dados foram analisados pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa Graphpad Prism 4.0.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O óleo essencial de *C. camphora* apresentou como composto majoritário o linalol (93,40%), seguido do beta-cariofileno (1,90%) e o alfa-humuleno (0,80%). Os dados apresentados na Figura 1, demonstraram que o óleo essencial de *C. camphora* inibiu totalmente o crescimento micelial do patógeno, a partir da concentração de 0,05%, da mesma forma como CHAO et al. (2000), que demonstraram o efeito deste óleo contra *Staphylococcus aureus*, *S. Epidermidis*, *Citrobacter freundii* e *Shigella flexneri*. Os extratos vegetais não inibiram o *S. sclerotiorum* nas doses utilizadas. ITAKO et al. (2008), relataram que o extrato de *C. citratus* a 10 % inibiu o crescimento *in vitro* de vários patógenos causadores de podridão radicular. Na Figura 2, os dados representam a incidência da doença em alface no tratamento com o óleo a 0,2 %. No tratamento A, os dados demonstraram redução da incidência da doença para 18%, contra 60% no tratamento controle 2. Os dados alcançados sugerem que o óleo de *C. camphora* tem potencial fungicida e/ou fungistática e portanto estudos complementares poderão ser desenvolvidos visando o seu emprego em programas de controle do mofo branco em alface.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATTI-SANTOS, A. C.; ROSSATO, M.; SERAFINI, L. A.; BUENO, M.; CRIPPA, L. B.; SARTORI, V.; DELLACASSA, E.; MOYNA, P. 2010. Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 20:154-159.

CHAO, S. C.; YOUNG, D. G. 2000. Screening for inhibitory activity of essential oils on selected

bacteria, fungi and viruses. *Journal Essential Oil Research* 12:630-649.

ITAKO, A.T.; SCHWAN-ESTRADA, K. Atividade antifúngica e proteção do tomateiro por extratos de plantas medicinais. *Tropical Plant Pathology* 33:241-244.

KUHN, O. J.; PORTZ, R. L.; STANGARLIN, J. R.; DEL ÁGUILA, R. M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; FRANZENER, G. 2006. Efeito do extrato aquoso de cúrcuma (*Curcuma longa*) em *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. *Ciências Agrárias* 27:13-20.

RODRIGUES, E.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; FIORI-TUTIDA, A.C.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M. E. S. 2007. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de alface em sistema de cultivo orgânico contra *Sclerotinia sclerotiorum* pelo extrato de gengibre. *Summa Phytopathol.* 33: 124-128.

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

Figura 1

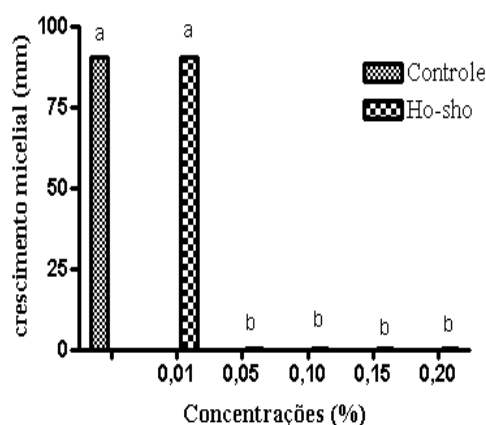
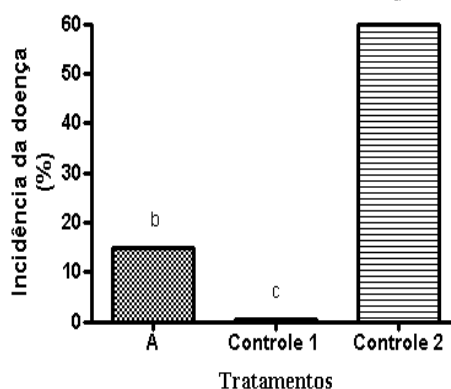


Figura 2



**FIGURA 1:** Efeito *in vitro* do óleo essencial de Ho-sho (*C. camphora*) sobre o desenvolvimento do patógeno *S. sclerotiorum* no 14º dia. Caxias do Sul, Universidade de Caxias do Sul, 2011.

FIGURE 1: *In vitro* effect of essential oil of Ho-sho (*C. camphora*) on the development of *S. sclerotiorum* on day 14. University of Caxias do Sul, 2011.

**FIGURA 2.** Incidência (%) de *S. sclerotiorum* em alface. Tratamento A: aplicação do óleo logo após o transplante das plântulas; Controle 1: solo sem patógeno; Controle 2: solo com patógeno. Colunas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \geq 0,05$ ). As barras representam o erro padrão da média. Caxias do Sul, Universidade de Caxias do Sul, 2011.

Figure 2. Incidence (%) of *S. sclerotiorum* in lettuce. Treatment A: application the oil [0,20] immediately after transplantation of seedlings; Control 1: soil without pathogen; control 2: soil with pathogen. Columns followed by same letter do not differ by Tukey test ( $P \geq 0,05$ ). The bars represent the standard error of mean. Caxias do Sul, University of Caxias do Sul, 2011.