

## Óleo de melaleuca (*Melaleuca alternifolia* Maiden & Betche, Cheel) no controle de cercosporiose em beterraba

SOUZA, A.D.<sup>1</sup>; ROGGERIO, T.U.<sup>1</sup>; FURLAN, M.R.<sup>2</sup>; AOYAMA, E.M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Faculdade Integral Cantareira, Rua Marcos Arruda, 729, CEP 03020-000, São Paulo, SP, Brasil. <sup>2</sup>Universidade de Taubaté, Rua 24 de março, Centro, Taubaté, SP, Brasil. <sup>3</sup>Centro Universitário Norte do Espírito Santo, Rodovia BR 101 Norte km 60, Bairro Litorâneo, 29932-540, São Mateus, ES, Brasil. \*Autor para correspondência: andreadantas@cantareira.br

**RESUMO:** O óleo volátil da melaleuca (*Melaleuca alternifolia* Maiden & Betche, Cheel) possui atividade antimicrobiana podendo causar efeitos sobre as plantas. Avaliou-se a inibição do óleo em *Cercospora beticola* Sacc., e seu efeito no aumento da produção e qualidade de raízes de beterraba. As doses foram de 0,13; 0,67; 0,80 e 1,00% do óleo, além das testemunhas composta pelo meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) no experimento *in vitro*, e água no experimento *in vivo*. As plantas foram pulverizadas duas vezes por semana. O delineamento foi inteiramente casualizado, com 4 repetições, e as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. O índice de infecção das folhas foi determinado por escala diagramática além do peso e diâmetro das raízes. Os resultados de inibição do crescimento micelial para as doses do óleo foram 0; 56; 87; 83 e 99%, e os índices de infecção: 77,08; 35,62; 21,04; 19,37 e 20,00%, respectivamente, para a testemunha e as doses 0,13; 0,67; 0,80 e 1,00% do óleo. Somente na concentração de 0,80% o óleo proporcionou relação positiva entre o ganho de peso e o diâmetro das raízes. O óleo de Melaleuca foi eficaz no controle de *C. beticola* e, como consequência, houve produção de raízes de beterraba com melhor desenvolvimento.

**Palavras chave:** cercosporiose, óleo medicinal, fitopatógeno, controle alternativo.

**ABSTRACT:** Tea tree oil (*Melaleuca alternifolia* Maiden & Betche, Cheel) in control of *Cercospora beticola* Sacc. on Beet. The volatile oil from Melaleuca (*Melaleuca alternifolia* Maiden & Betche Cheel.) has antimicrobial properties and can promote several effects on plant cultivation. The aim of this study was to evaluate the inhibition of the oil in *Cercospora beticola* Sacc. and if it favors the growth and development of beet root. The doses were 0.13, 0.67, 0.8 and 1% of oil, besides the control PDA (potato-dextrose-agar) *in vitro* (laboratory condition) and with water as treatment control *in vivo* (field conditions). The plants were sprayed twice a week. The treatments were completely randomized and the averages were compared using the Tukey test at 5%. The infection rate of leaves was measured by diagrammatic scale besides the weight and diameter of tubers. The inhibition results of the radial growth by oil treatments were 0; 56, 87, 83 and 99%, while the infection rate showed: 77.08, 35.62, 21.04, 19.37 and 20% respectively to the control and to the oil concentration of 0,13; 0,67; 0,80 e 1,00%. Only at concentration of 0.8% the tea tree oil showed a positive relationship between tuber's weight and tuber's diameter gains. It can be concluded that tea tree oil is effective to controlling *C. beticola*, and also promotes an increase on development in beet tubers.

**Keywords:** Cercospora leaf spot, medical oil, phytopathogen, alternative control.

### INTRODUÇÃO

A beterraba de mesa ou hortícola (*Beta vulgaris* L. var. *crassa*), se destaca entre as hortaliças pelo consumo de suas raízes, aproveitamento das folhas na culinária, e devido à sua composição

nutricional, sobretudo em açúcares (Aquino et al., 2006).

Entretanto, a sua produção é limitada pela ocorrência de diversos patógenos e, dentre

eles, destaca-se o fungo *Cercospora beticola* Sacc., agente etiológico da cercosporiose, doença caracterizada por manchas foliares claras com halo arroxeado, com diâmetro entre 02 a 05 cm, que afeta primeiramente as folhas adultas e depois as mais novas (May de Mio et al., 2008). Epidemias severas da doença provocam diminuição da capacidade fotossintética da planta, a qual tem que substituir as folhas atacadas por novas folhas, às custas das reservas da raiz, depreciando o seu valor comercial (Espadinha, 2007).

O controle da doença é feito por meio de fungicidas como, por exemplo, à base de mancozebe e de tebuconazole (Gribogi & Salles, 2007). No entanto, a formação de uma consciência ecológica e a preocupação com a preservação do meio ambiente têm gerado a necessidade de testar produtos naturais, visando um controle alternativo de fitopatógenos (Venturoso et al., 2011).

Entre as espécies com potencial antimicrobiano, é exemplo a melaleuca (*Melaleuca alternifolia* Cheel.), também conhecida por *tea tree*, árvore-ti e árvore-do-chá (László, 2007). É uma árvore aromática pertencente à família Myrtaceae, originária da Austrália, e com grande interesse econômico devido à presença de óleo volátil armazenado no tecido foliar (Martins et al., 2011).

Apesar do potencial antimicrobiano do seu óleo, são poucos os trabalhos com relação ao seu uso contra fitopatógenos. Scheuermann et al. (2011) verificaram que os óleos essenciais de *M. alternifolia* e *Eucalyptus citriodora* inibem o crescimento micelial de *Bipolaris oryzae*, e a pesquisa de Martins et al. (2011), a qual resultou em efeito positivo no uso do óleo de melaleuca *in vitro* contra os fungos fitopatogênicos *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Alternaria alternata*, sendo que os autores concluíram que o óleo pode representar uma alternativa econômica e ecologicamente viável para o controle de doenças de plantas.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar o efeito do óleo de melaleuca controle *Cercospora beticola*, e se o controle reflete na produção de raízes de beterraba com melhor desenvolvimento.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento *in vitro* foi desenvolvido no laboratório de Fitossanidade e a etapa *in vivo* na horta, ambos localizados na Faculdade Integral Cantareira, município de São Paulo – SP, Brasil.

O óleo volátil de melaleuca foi adquirido no Laboratório Herbia Beneficiamentos de Plantas Ltda.- Joinville/SC.

O ensaio *in vivo* foi iniciado com o isolamento da *C. beticola* de folhas de beterraba contaminadas

pelo patógeno e coletadas no mesmo dia em São Paulo. O isolamento constituiu na incubação de fragmentos das folhas contaminadas em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) a 28°C ± 2 em BOD, e posterior identificação.

Foram avaliados, quanto à inibição, os extratos alcoólicos do óleo volátil de melaleuca nas doses 0,13; 0,67; 0,80 e 1%, adicionados em meio BDA, após a autoclavagem do meio. Os tratamentos, com quatro repetições cada, foram dispostos no delineamento inteiramente casualizado. Transferiram-se para o centro das placas de 80mm, disco de 7 mm contendo micélios de *C. beticola*, e incubados em estufa de crescimento a 28 ± 2°C. Após oito dias de incubação das placas, quando o crescimento micelial do tratamento testemunha estava próximo de atingir as bordas das placas, as mesmas foram analisadas, medindo-se o diâmetro das colônias com o auxílio de um paquímetro digital nos dois sentidos perpendiculares.

A segunda etapa, também no delineamento em blocos e que se constituiu na avaliação *in vivo*, com cinco tratamentos de quatro repetições cada, localizadas em uma área endêmica de cercosporiose. Após a análise de solo, foi efetuada a adubação de acordo com a recomendação técnica para a cultura, e depois desta prática, foi realizada a semeadura de sementes de beterraba, cultivar crassa dividindo-se as parcelas em dez subparcelas com 40 cm<sup>2</sup> cada. Após dez dias, realizou-se o raleio das mudas para um melhor desenvolvimento das mesmas. Assim que foi constatado o aparecimento dos dois pares de folhas definitivas, iniciaram-se a aplicação das concentrações de óleo, citadas na primeira etapa. A aplicação foi efetuada em uma subparcela, selecionada por sorteio, de cada parcela. As concentrações foram diluídas em água, borrifadas com ajuda de aplicador manual, sobre as folhas e no solo e, para testemunha, borrifou-se apenas água. A aplicação foi repetida duas vezes por semana, durante um período de 90 dias.

Após o término deste período, iniciou-se a colheita de cinco plantas de cada subparcela, descartando-se a bordadura, totalizando 20 plantas por tratamento.–

As raízes foram separadas das folhas e submetidas a uma análise para quantificação da massa e do diâmetro. Para quantificar a cercosporiose, 80 folhas de cada tratamento tiveram a porcentagem de área foliar com sintomas (severidade) da doença estimada com o auxílio de uma escala diagramática de seis níveis (0,41; 0,97; 2,26; 5,21; 11,53 e 23,61%) (May de Mio et al., 2008).

Os resultados obtidos foram submetidos a uma análise estatística e as médias foram comparadas por meio do teste Tukey, 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primeira etapa, as inibições do crescimento micelial de *C. beticola* foram: 0; 56; 87; 83 e 99%, causadas, respectivamente, pela testemunha; e pelas doses de 0,16; 0,67; 0,80 e 1% de concentração de óleo volátil de melaleuca (Figuras. 1). A dose de 1,00% diferiu significativamente das demais, indicando essa ser a melhor dose entre as avaliadas. Esses dados confirmam a ação fungicida do óleo, assim como foi observado por Scheuermann et al. (2011), no controle de *Bipolaris oryzae* e Martins et al. (2011), no controle de *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum* e de *Alternaria alternata*. Nenoff et al. (1996) observaram a inibição do crescimento em 26 espécies de fungos clínicos em testes *in vitro* com o uso do óleo essencial de melaleuca.

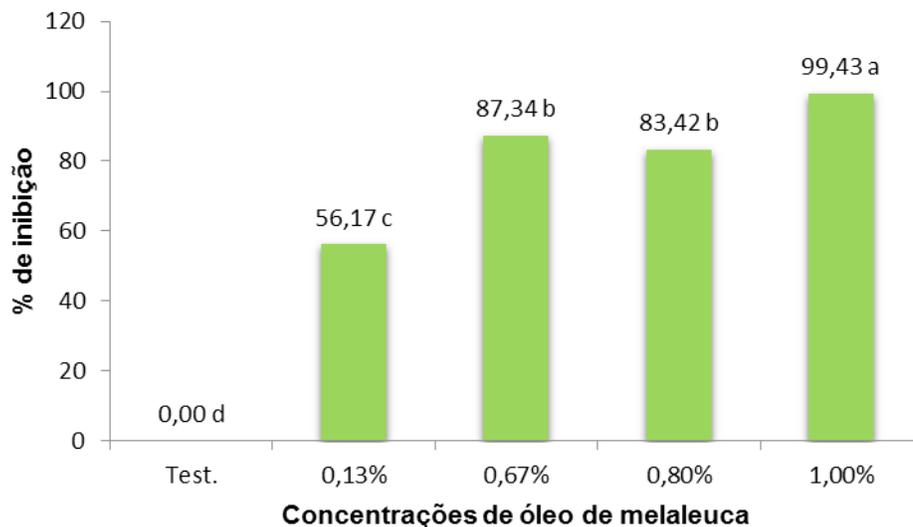
Carson et al. (2006), em extensa revisão sobre as propriedades medicinais e antimicrobiana de *Melaleuca alternifolia*, relataram, que um dos mecanismos de ação antifúngica do óleo essencial, é a alteração na permeabilidade da membrana (Hammer et al., 2004), sendo tanto a membrana plasmática como a mitocondrial, severamente afetadas (Cotmore et al., 1979). Além disso, pode ocorrer a inibição da respiração mitocondrial e, em consequência, a produção de energia (Cotmore et al., 1979; Cox et al., 2000). A possibilidade é que o óleo essencial de *Melaleuca* atue diretamente em enzimas respiratórias (Cox et al., 2000). Outros estudos apontam que o óleo inibe a formação do tubo germinativo, ou a conversão micelial (Hammer et al., 2000; D'Auria et al., 2001) afetando dessa forma o desenvolvimento e o crescimento do fungo.

No controle do patógeno *in vivo*, os resultados referentes aos sintomas de infecção nas folhas, e de acordo com a escala diagramática

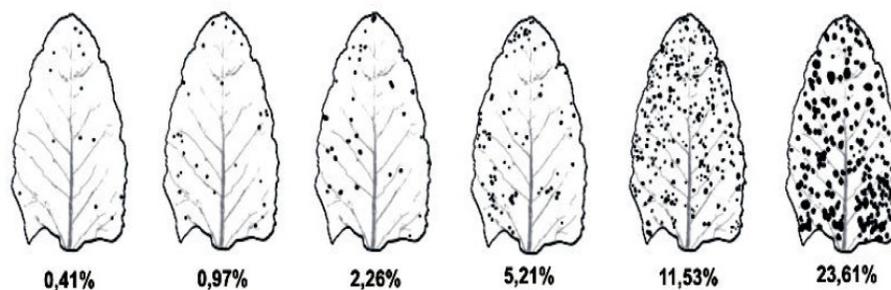
(Figura 2), foram de 77% para a testemunha e para as doses de 0,16; 0,67; 0,80 e 1% foram, respectivamente, 35,6; 21; 19,4 e 20% (Figura 3), sendo que não houve diferença entre as três maiores doses, indicando que a partir de 0,67% de concentração do óleo, já se obtém resultado expressivo, que se assemelha aos obtidos por Medice (2007), o qual utilizou o óleo essencial de melaleuca para o controle *in vivo* da ferrugem asiática causada por *Phakopsora pachyrhizi*, e verificou redução de 88,6% da severidade do patógeno em relação à testemunha, e também aos resultados obtidos por Chagas (2009), que com concentrações de óleo de melaleuca, igual ou superiores a 3000  $\mu\text{L L}^{-1}$ , verificou menos de 5% de germinação de esporos de *Amphobotrys ricini*.

Os estudos sobre o controle da cercosporiose são antigos (Inman-Bamber, 1978), mas somente nas duas últimas décadas é que têm sido realizadas pesquisas visando a busca de outros produtos, principalmente para os isolados resistentes aos fungicidas convencionais (Karadimos & Karaoglanidis, 2006; Karaoglanidis & Bardas, 2006). Dessa forma, o uso de óleo essencial de melaleuca vem contribuir para uma alternativa aos produtos químicos.

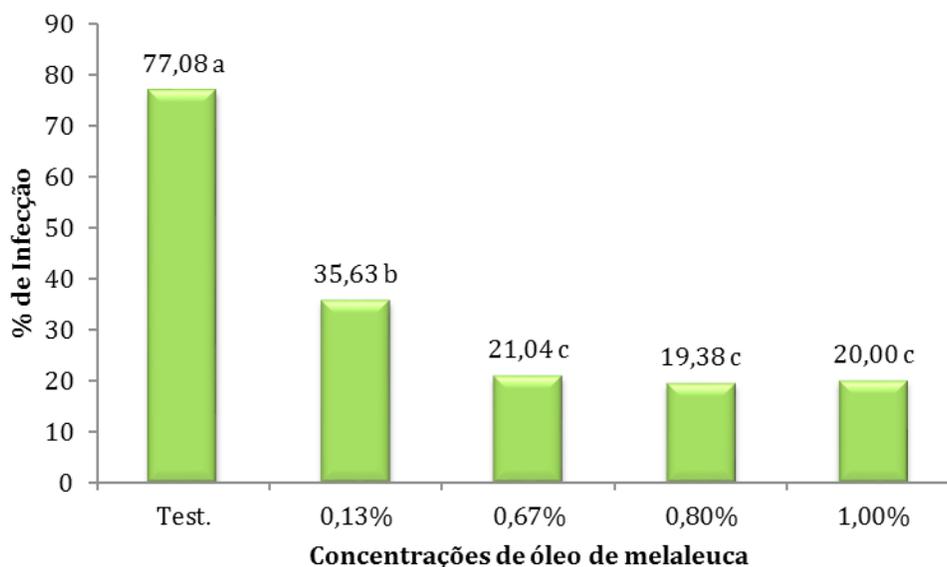
Quanto ao efeito ocasionado pelo óleo de melaleuca no desenvolvimento das raízes, a concentração de 0,80% diferiu das demais e proporcionou maior peso das raízes, mas todas as demais doses foram superiores nesse parâmetro quando comparadas com a testemunha (Figura 4). Com relação ao diâmetro, todas as dosagens proporcionaram melhores resultados quando comparados com a testemunha. No entanto, não houve diferença entre as concentrações 0,67% e 0,80%, as quais resultaram em maiores diâmetros (Figura 5).



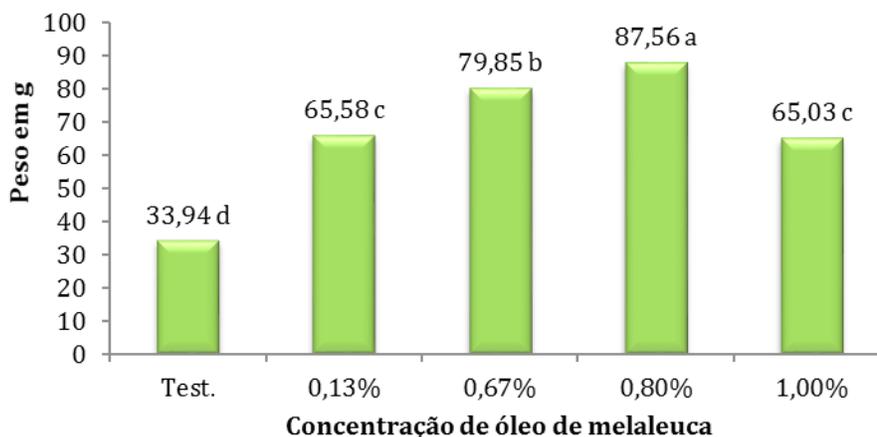
**FIGURA 1.** Análise *in vitro* da porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Cercospora beticola* em diferentes concentrações de óleo de melaleuca. Médias seguidas de mesma letra não diferem (Tukey 5%).



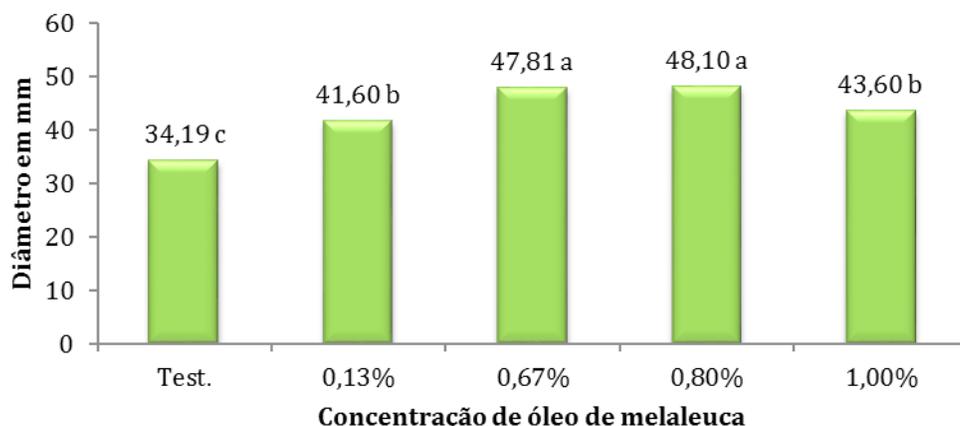
**FIGURA 2.** Escala diagramática utilizada para a avaliação da severidade da mancha de cercospora, causada pelo fungo *Cercospora beticola* em folhas de beterraba (*Beta vulgaris*). (Figura extraída de May de Mio et al., 2008).



**FIGURA 3.** Análise *in vivo* da porcentagem de infecção de *Cercospora beticola* em folhas de *Beta vulgaris*, após 90 dias de aplicação de diferentes concentrações de óleo essencial de melaleuca. Médias seguidas de mesma letra não diferem (Tukey, 5%).



**FIGURA 4.** Peso de raízes de *Beta vulgaris*, após um período de 90 dias de aplicação de diferentes concentrações de óleo essencial de melaleuca. Médias seguidas de mesma letra não diferem (Tukey, 5%).



**FIGURA 5.** Diâmetro de raízes de *Beta vulgaris*, após um período de 90 dias de aplicação de diferentes concentrações de óleo essencial de melaleuca. Médias seguidas de mesma letra não diferem (Tukey, 5%).

## CONCLUSÕES

A utilização do óleo essencial de melaleuca mostrou eficiência na inibição do crescimento micelial e na redução da cercosporiose na beterraba e promoveu ganho de peso e de diâmetro das raízes de beterraba sem causar fitotoxicidade.

## REFERÊNCIAS

- AQUINO, L.A. et al., Produtividade, qualidade e estado nutricional da beterraba de mesa em função de doses de nitrogênio. **Horticultura Brasileira**, v.24, n.2, p.199-203, 2006.
- CARSON, C.F. et al., *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. **Clinical Microbiological Review**, v.19, n.1, p.50-62, 2006.
- COTMORE, J. M. et al., Respiratory inhibition of isolated rat liver mitochondria by eugenol. **Archives of Oral Biology**, v.24, p.565-568, 1979.
- COX, S.D. et al., The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). **Journal of Applied Microbiology**, v.88, p.170-175, 2000.
- D'AURIA, F.D. et al., *In vitro* activity of tea tree oil against *Candida albicans* mycelial conversion and other pathogenic fungi. **Journal of Chemotherapy**, v.13, p.377-383, 2001.
- ESPADINHA, M. **Chaves para controlar a cercosporiose na beterraba de sementeira outonal**. Disponível em: <[http://www.dai-sa.pt/pdfs/info\\_tecnica/Chaves\\_para\\_controlar\\_a\\_Cercosporiose.pdf](http://www.dai-sa.pt/pdfs/info_tecnica/Chaves_para_controlar_a_Cercosporiose.pdf)>. Acesso em: 14 de nov de 2011.
- GRIBOGI, C.C.; SALLES, R.F.M. Vantagens da semeadura direta no cultivo de beterraba. **Revista Acadêmica**, v.5, n.1, p.33-38, 2007.
- HAMMER, K.A. et al., *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil inhibits germ tube formation by *Candida albicans*. **Medical Mycology**, v.38, p.355-362, 2000.
- HAMMER, K.A. et al., Antifungal effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and its components on *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.53, p.1081-1085, 2004.
- INMAN-BAMBER, N.G. The effect of *Cercospora beticola* (leaf spot) and disease control measures on sugar beet in Natal. **Proceedings of The South African Sugar Technologists' Association**, p.214-218, 1978.
- KARADIMOS, D.A.; KARAOGLANIDIS, G.S. Comparative efficacy, selection of effective partners, and application time of Strobilurin fungicides for control of *Cercospora* leaf spot of sugar beet. **Plant Disease**, v.90, n.6, p.820-825, 2006.
- KARAOGLANIDIS, G.S.; BARDAS, G. Control of benzimidazole- and DMI-resistant strains of *Cercospora beticola* with Strobilurin fungicides. **Plant Disease**, v.90, n.4, p.419-424, 2006.
- LÁSZLÓ, F. **Tea Tree**. Disponível em: <[www.aromalandia.org/tea\\_tree.htm](http://www.aromalandia.org/tea_tree.htm)>. Acesso em maio/2007.
- MARTINS, J.A.S., et al., Avaliação do efeito do óleo de *Melaleuca alternifolia* sobre o crescimento micelial in vitro de fungos fitopatogênicos. **Bioscience Journal** (Online), v.27, p.49-51, 2011.
- MAY DE MIO, L.L., et al., Proposta de escala diagramática para quantificação da cercosporiose da beterraba. **Scientia Agraria**, v.9, n.3, p.331-337, 2008.
- MEDICE, R. **Produtos alternativos para o manejo de ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) da soja**. 2007. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- NENOFF, P. et al., Antifungal activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil) against pathogenic fungi *in vitro*. **Skin Pharmacology**, v.9, n.6, p.388-394, 1996.
- SCHEUERMANN, K.K. et al., Avaliação do potencial antifúngico *in vitro* de óleos essenciais e extratos vegetais contra *Bipolaris oryzae*. IN: **CONGRESSO BRASILEIRO ARROZ IRRIGADO**, 7., 2011, Balneário Camboriú. Anais. Florianópolis: Epagri, 2011. v.1. p.543-546.
- VENTUROSOSO, L.R. et al., Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, v.37, n.1, p.18-23, 2011.