

# Atividade de óleos e extratos vegetais sobre germinação carpogênica e crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*

## Activity of plant extracts on the carpogenic germination and mycelial growth of *Sclerotinia sclerotiorum*

Cláudia de Souza Zanella<sup>1\*</sup>, Walber Luiz Gavassoni<sup>1</sup>,  
Lilian Maria Arruda Bacchi<sup>1</sup>, Anelise Samara Nazari Formagio<sup>1</sup>

**RESUMO:** A germinação carpogênica e o crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* foram avaliados sob extratos metanólicos de *Annona cacans*, *A. coriacea*, *A. crassiflora*, *A. dioica*, *A. sylvatica*, *Geophila repens*, *Guettarda viburnoides*, *Palicourea crocea*, *Schinus terebinthifolius* e *Trichilia silvatica*, e sob as frações hexânica, hidrometanólica, clorofórmica e acetato de etila de *A. cacans* e óleo essencial de *S. terebinthifolius*. A concentração utilizada foi de 1.000 ppm para os extratos e de 100 ppm para as frações. Os extratos vegetais e as frações foram incorporados em meio ágar-água, que foi vertido em caixas gerbox com 20 escleródios. O crescimento micelial foi avaliado em óleo essencial de *S. terebinthifolius*, nas concentrações de 0, 100 e 1.000 ppm, incorporado ao meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar). A germinação carpogênica apresentou-se menor sob os extratos de *G. repens*, *P. crocea* e *S. terebinthifolius* e sob as frações acetato de etila e clorofórmica de *A. cacans*. O número de apotécios formados por gerbox foi menor com o extrato de *A. cacans*. O crescimento micelial apresentou 10% de inibição na maior concentração do óleo essencial de *S. terebinthifolius*.

**PALAVRAS-CHAVE:** escleródio; apotécio; mofo branco.

**ABSTRACT:** The effect of methanolic extracts of *Annona cacans*, *A. coriacea*, *A. crassiflora*, *A. dioica*, *A. sylvatica*, *Geophila repens*, *Guettarda viburnoides*, *Palicourea crocea*, *Schinus terebinthifolius* e *Trichilia silvatica*, and *A. cacans* hexane, ethyl etila, aqueous and chloroform fractions and the essential oil of *S. terebinthifolius* on mycelial growth and carpogenic germination of *Sclerotinia sclerotiorum* was evaluated. The concentrations are 1,000 ppm for the extracts and 100 ppm for the fractions. To evaluate the germination, carpogenic, extracts and fractions were incorporated in agar-water that was poured into gerboxes where 20 sclerotia were distributed. To evaluate the mycelial growth, essential oil of *S. terebinthifolius* in concentrations of 0, 100 and 1,000 ppm was incorporated into the PDA and then poured into Petri dishes, to where pathogen mycelial discs were transferred. Extracts of *G. repens*, *P. crocea* and *S. terebinthifolius* and fractions ethyl acetate and chloroform of *Annona cacans* reduced the carpogenic germination of sclerotia of *S. sclerotiorum* and the extract of *A. cacans* reduced the number of apothecia formed. Mycelial growth showed 10% inhibition at the highest concentration of essential oil of *S. terebinthifolius*.

**KEYWORDS:** sclerotia; apothecium; white mold.

Este artigo é parte da Tese de Doutorado do primeiro autor: "Extratos vegetais na germinação carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum* em ágar-água e solo, 2012, Universidade Federal da Grande Dourados."

<sup>1</sup>Faculdade de Ciências Agrárias; Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) – Dourados (MS), Brasil.

\*Autor correspondente: clauzaza@gmail.com

Recebido em: 13/05/2014. Aceito em: 08/11/2014

## INTRODUÇÃO

O fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, agente causal da doença conhecida como mofo branco ou podridão de esclerotínia, pode infectar mais de 400 espécies de plantas entre monocotiledôneas e dicotiledôneas (BOLLAND; HALL, 1994). Este fungo está distribuído em todas as regiões produtoras, sejam elas temperadas, subtropicais ou tropicais, e pode atacar culturas como batata, ervilha, feijão, girassol e soja.

A procura por vegetais e seus produtos livres de agrotóxicos é crescente, estimulando a busca por novas medidas de proteção das plantas contra as doenças. Dentro deste contexto, a atividade de compostos secundários presentes em extratos ou óleos essenciais de plantas medicinais pode se constituir em mais uma forma de controle alternativo de doenças em plantas (STANGARLIN *et al.*, 1999).

As plantas têm a capacidade de produzir metabólitos secundários, como fenóis, ácidos fenólicos, quinonas, flavonas, flavonoides, taninos, cumarinas, terpenoides e alcaloides. Em muitos casos, essas substâncias atuam como defesa da planta contra micro-organismos, insetos e herbívoros. Cientistas de diversos campos têm investigado as atividades antimicrobianas das plantas demonstrando a ação inibitória a vários grupos de micro-organismos devido à produção de fitoquímicos (CAWAN, 1999).

Extratos ou óleos essenciais de diversas espécies foram avaliados e tiveram seu efeito comprovado no controle de fungos fitopatogênicos, como é o caso do gengibre (RODRIGUES *et al.*, 2007), arruda, carqueja e manjeriço (STANGARLIN *et al.*, 1999), *Annona cacans* e *A. crassiflora* (LIMA *et al.*, 2007), *Annona* sp. (SILVA *et al.*, 2008) e *Schinus terebinthifolius* (LIMA *et al.*, 2010), evidenciando o potencial do uso de extratos e óleos vegetais como alternativa aos fungicidas químicos.

SILVA *et al.* (2008), ao testarem os extratos de folhas e do cerne e córtex da raiz e do caule da “fruta-do-conde” (*Annonaceae*), verificaram que o extrato hexânico do cerne do caule da planta foi ativo contra o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*. Os autores sugerem que o princípio ativo contra o patógeno deve estar presente em maior concentração no cerne do caule do que nas demais partes da planta. RODRIGUES *et al.* (2007) verificaram que o extrato aquoso de gengibre inibiu o crescimento micelial de *S. sclerotiorum* em 92,5%, e em quase 30% a produção de escleródios na concentração de 25%.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a germinação carpogênica de escleródios de *S. sclerotiorum* sob diferentes extratos e óleos de espécies vegetais, assim como avaliar o crescimento micelial do patógeno sob diferentes concentrações do óleo essencial de *S. terebinthifolius*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois experimentos, sendo o primeiro com cinco ensaios, para avaliar a germinação carpogênica, e o segundo com um ensaio para avaliar o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Microbiologia Agrícola e Fitopatologia da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), no período de maio de 2010 a janeiro de 2012.

### Obtenção, multiplicação e manutenção do inóculo

Os isolados de *S. sclerotiorum* foram obtidos em área naturalmente infestada pelo patógeno no município de Chapadão do Sul (MS). Os escleródios foram produzidos a partir da repicagem do micélio do fungo para erlenmeyers contendo discos de cenoura previamente autoclavados. Os frascos foram incubados a 25°C, em escuro pleno, por 30 dias. Após esse período, os escleródios formados foram retirados dos frascos, lavados em água corrente e armazenados a 5°C até a sua utilização nos experimentos.

### Delineamento experimental e análise de dados

Os dados expressos em porcentagem foram transformados em arco seno da  $\sqrt{(x+1)/100}$ , e os demais dados, em  $\sqrt{x+1}$ . Foi realizada a análise de variância com o auxílio do programa SISVAR (FERREIRA, 2011), e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados de germinação carpogênica foram submetidos à análise de regressão entre o tempo de incubação (dias), como fator independente, e a germinação carpogênica (%) como variável dependente para os extratos testados.

### Espécies vegetais

Folhas das espécies vegetais *Annona cacans*, *Annona crassiflora*, *Annona coriacea*, *Annona sylvatica* e *Trichilia sylvatica* foram coletadas próximo à cidade de Dourados (MS). As espécies *Geophila repens*, *Palicourea crocea* e *Guettarda viburnoides* foram coletadas no Parque Ivinhema, no município de Ivinhema (MS). Frutos, folhas e caules de *Schinus terebinthifolius* foram coletados no Horto de Plantas Medicinais da UFGD, no município de Dourados (MS). As espécies foram identificadas pela professora Dr. Zefa Valdevina Pereira, e as exsiccatas sob registro *A. cacans* (DDMS 3818), *A. coriacea* (DDMS 186), *A. crassiflora* (DDMS 4599), *A. dioica* (DDMS 4598), *A. sylvatica* (DDMS 4600), *G. repens* (DDMS 4467), *G. viburnoides* (DDMS 3520), *P. crocea* (DDMS 4448), *S. terebinthifolius*

(DDMS 4602) e *T. silvatica* (DDMS 4662) encontram-se depositadas no Herbário da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA/UFGD).

## Preparação, fracionamento e extração do óleo essencial das espécies vegetais

O material vegetal (folhas) das espécies foi desidratado em estufa de ar circulante à temperatura de 55°C e triturado em moinho de facas. O extrato metanólico foi obtido por maceração exaustiva com metanol. Os extratos foram submetidos ao particionamento líquido-líquido, com hexano, clorofórmico e acetato de etila, que, com posterior evaporação dos solventes em rota evaporador, resultaram nas frações hexânica, clorofórmica, acetato de etila e hidrometanólica. Para obtenção do óleo essencial, frutos de *S. terebinthifolius* foram submetidos à hidrodestilação em aparelho Clevenger por quatro horas (GOTTLIEB; MAGALHÃES, 1960) O óleo essencial obtido foi lavado com hexano e seco com sulfato de sódio anidro.

## Germinação carpogênica sob diferentes extratos vegetais

Para a avaliação da germinação carpogênica foram realizados cinco ensaios, em delineamento inteiramente casualizado, com 10 repetições e o número de tratamentos variando para cada ensaio, conforme descrito na Tabela 1.

Os extratos e partições foram dissolvidos em tubos de ensaio contendo água esterilizada e autoclavada, na proporção de 0,5 g de extrato e 9,5 mL de água. Após agitação dos tubos em agitador Vortex para a dissolução dos extratos, a solução foi vertida em 490 mL do meio ágar-água e transferida para caixas tipo gerbox (11,5 x 11,5 x 3,5 cm). Vinte escleródios foram, então, distribuídos sobre o meio, após sua solidificação, e os gerbox foram incubados a 18°C com fotoperíodo de 12 h luz / 12 h escuro. A concentração final dos extratos e do óleo foi de 1.000 ppm, e das frações, de 100 ppm.

As avaliações iniciaram-se a partir da verificação da emissão de estipes. Foi enumerado o número total de escleródios com emissão de estipes e de apotécios, assim como o número total de estipes e de apotécios por unidade experimental. Com base no número de escleródios com apotécios, calculou-se a porcentagem de germinação carpogênica. Foi considerada germinação carpogênica a formação de apotécios pelo escleródio.

## Crescimento micelial sob diferentes extratos vegetais

Para a avaliação do crescimento micelial foi realizado um ensaio, em delineamento inteiramente casualizado, com 10 repetições. Os tratamentos constaram das concentrações de 0, 100 e 1.000 ppm de óleo essencial de *S. terebinthifolius*, e o fungicida procimidone (150 g/100 L).

**Tabela 1.** Ensaios realizados da germinação carpogênica de *S. sclerotiorum* sob extratos metanólicos (1.000 ppm) e frações obtidas a partir da partição dos extratos vegetais (100 ppm).

Ensaio	Tratamentos
1	<i>Annona cacans</i>
	<i>Annona coriacea</i>
	<i>Annona sylvatica</i>
	<i>Annona crassiflora</i>
	<i>Annona dioica</i>
	Testemunha (somente ágar/água)
2	<i>Annona cacans</i>
	<i>Annona cacans</i> – fração hexânica
	<i>Annona cacans</i> – fração clorofórmica
	<i>Annona cacans</i> – fração acetato de etila
	<i>Annona cacans</i> – fração hidrometanólica
	<i>Schinus terebinthifolius</i>
3	Fungicida (i.a. Procimidone na dose de 150 g/100 L)
	Testemunha (somente ágar/água)
	<i>Trichilia silvatica</i>
	<i>Geophila repens</i>
	<i>Palicourea crocea</i>
4	<i>Guettarda viburnoides</i>
	Testemunha (somente ágar/água)
	<i>Palicourea crocea</i>
	<i>Geophila repens</i>
	<i>Guettarda viburnoides</i>
5	Testemunha (somente ágar/água)
	Fungicida (i.a. Procimidone na dose de 150 g 100 L <sup>1</sup> )
	<i>Schinus terebinthifolius</i> (caule)
	<i>Schinus terebinthifolius</i> (folha)
	<i>Schinus terebinthifolius</i> (óleo essencial)
	Fungicida (i.a. Procimidone na dose de 150 g 100 L <sup>1</sup> )

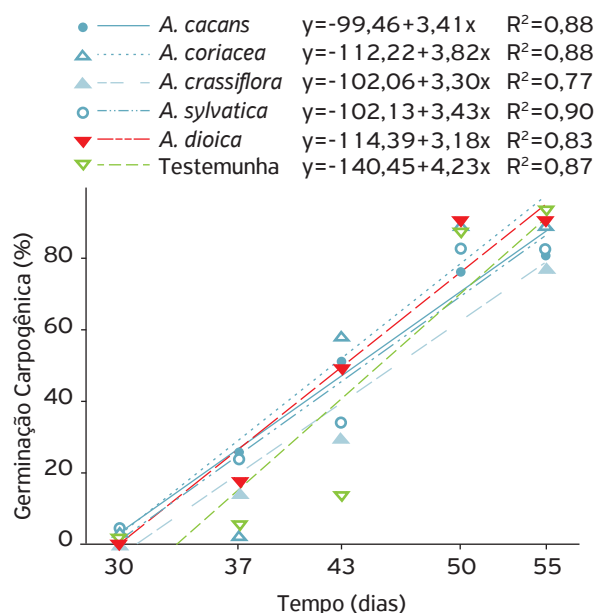
O óleo essencial de *S. terebinthifolius* e o fungicida Procimidone foram homogeneizados no meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA) e vertidos em placas de Petri. Após a solidificação do meio, discos miceliais do patógeno com 0,3 cm de diâmetro, provenientes de cultura pura em meio BDA, foram transferidos para o centro das placas. As placas foram incubadas a temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 h luz / 12 h escuro. As avaliações, realizadas diariamente, iniciaram-se 24 horas após a incubação e foram encerradas 96 horas depois, mensurando-se o diâmetro das colônias em dois eixos ortogonais, com o auxílio de uma régua milimetrada. A inibição do crescimento do patógeno (%) foi obtida comparando-se o diâmetro médio, em cm, entre as colônias sob tratamentos e a testemunha, após quatro dias de incubação, por meio da fórmula:  $PIC = [(diâmetro da testemunha - diâmetro do tratamento) / diâmetro da testemunha] \times 100$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Germinação carpogênica sob diferentes extratos vegetais

Observaram-se que alguns dos extratos metanólicos avaliados afetaram a germinação carpogênica de *S. sclerotiorum*. No primeiro ensaio (Fig. 1), utilizando os extratos metanólicos de *A. cacans*, *A. coriacea*, *A. crassiflora*, *A. sylvatica* e *A. dioica*, apenas na avaliação realizada 43 dias após incubação (DAI) observou-se diferença na germinação carpogênica entre os tratamentos (Tabela 2), na qual a testemunha apresentou menor porcentagem de germinação carpogênica em relação à *A. cacans*, *A. coriacea* e *A. dioica*, 72, 75 e 71%, respectivamente. Entretanto, nas avaliações posteriores, a germinação carpogênica da testemunha aumentou (Fig. 1), igualando-se aos demais tratamentos. O extrato de *A. cacans*, aos 50 DAI, inibiu a emissão do número de apotécios em relação à testemunha e aos extratos de *A. dioica* e *A. coriacea* (Tabela 2).

Embora não tenham apresentado efeito sobre a germinação carpogênica de *S. sclerotiorum*, extratos hexânicos de *A. coriacea* e *A. crassiflora* apresentaram inibição da germinação de uredósporos de *Phakopsora pachyrhizi* na ordem de 93,9 e 96,25%, respectivamente (LIMA et al., 2007). O fungo *Alternaria solani* teve seu crescimento micelial inibido em 26 e 17,5%, quando exposto aos extratos hexânicos de *A. crassiflora* e *A. coriacea*, respectivamente (MARQUES et al., 2007). Entretanto, extratos etanólicos de *A. crassiflora* não apresentaram efeito no crescimento micelial de *Fusarium solani*, mesmo na maior concentração (RÊGO et al., 2011).



**Figura 1.** Germinação carpogênica (%) de *S. sclerotiorum* sob extratos metanólicos (1.000 ppm) de diferentes espécies de Annonaceae em função do tempo (dias) após a incubação.

Apesar da presença de polifenóis nos extratos metanólicos de *A. coriacea*, *A. crassiflora* e *A. sylvatica* (FORMAGIO et al., 2010), estes não apresentaram nenhuma ação na germinação carpogênica de escleródios de *S. sclerotiorum*, sugerindo que os compostos presentes nestes extratos, na concentração utilizada, não afetam o patógeno em questão. São escassos os trabalhos avaliando a germinação carpogênica de *S. sclerotiorum*, mas, ao avaliarem o crescimento miceliogênico do patógeno em meio BDA, SILVA et al. (2008) verificaram que apenas o extrato de cerne do caule de *Annona* sp. inibiu o crescimento micelial do patógeno, enquanto os extratos de folha e raiz não apresentaram efeito sobre o fungo.

No segundo ensaio, a inibição da germinação carpogênica apresentou-se maior com o extrato metanólico de *S. terebinthifolius* e de *A. cacans*, e suas frações acetato de etila e clorofórmica. Na avaliação realizada aos 78 DAI, a germinação carpogênica foi reduzida em 100, 94, 90 e 51% sob os extratos de fração acetato de etila de *A. cacans*, fração clorofórmica de *A. cacans*, extratos de *S. terebinthifolius* e de *A. cacans*, respectivamente (Tabela 3).

O terceiro ensaio foi realizado com os extratos metanólicos de *G. repens*, *P. crocea*, *G. viburnoides*, *T. silvatica*. Os dois primeiros extratos inibiram em 100% a germinação carpogênica dos escleródios em todas as épocas de avaliação, diferindo-se da testemunha. A germinação carpogênica sob os extratos de *G. viburnoides* e *T. silvatica* foi menor que na testemunha somente na primeira avaliação, sendo que, nas demais avaliações, não houve diferença entre esses tratamentos e a testemunha (Tabela 4).

No quarto ensaio, foram utilizados os extratos de *P. crocea*, *G. repens*, *G. viburnoides*, além do fungicida procimidone, sendo que o resultado do segundo ensaio se repetiu, com *G. repens* e *P. crocea* inibindo a germinação carpogênica em relação ao extrato de *G. viburnoides* e à testemunha (Tabela 5).

**Tabela 2.** Germinação carpogênica e número de apotécios formados por unidade experimental de escleródios de *S. sclerotiorum* sob extratos metanólicos (1.000 ppm) de diferentes espécies de Annonaceae aos 43 e aos 50 dias de incubação, respectivamente.

Treatamento	GC (%) aos 43 DAI	NAF aos 50 DAI
<i>A. cacans</i>	51,5 a	40,3 b
<i>A. sylvatica</i>	34,0 ab	67,0 ab
<i>A. crassiflora</i>	29,5 ab	53,7 ab
<i>A. dioica</i>	50,0 a	80,1 a
<i>A. coriacea</i>	58,5 a	79,6 a
Testemunha	14,5 b	79,9 a
CV (%)	46,9	22,6

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

GC: germinação carpogênica; DAI: dias de incubação; NAF: número de apotécios formados; CV: coeficiente de variação.

SUFFREDINI *et al.* (2006) consideraram o extrato da parte aérea de *Palicourea guianensis* uma fonte potencial de antibiótico a *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* em razão da baixa concentração mínima inibitória a esses patógenos, demonstrando a atividade antimicrobiana do gênero. Entretanto, JORGE (2005) observou que o extrato bruto da planta *P. crocea* não foi ativo diante da *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e

*Candida albicans*, pois a concentração mínima inibitória do extrato bruto foi maior que 1.000 mg/mL para todos os micro-organismos.

Extratos de *Trichilia elegans* e *T. clausenii* não apresentaram efeito no crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, sendo que este último estimulou o crescimento do patógeno (SIERRA-HAYER *et al.*, 2009), corroborando os resultados do presente estudo, em que o extrato

**Tabela 3.** Germinação carpogênica (%) de *S. sclerotiorum* sob extratos metanólicos (1.000 ppm) de *Annona cacans*, *Schinus terebinthifolius*, frações (100 ppm) hexânica, acetato de etila, hidrometanólica e clorofórmica de *Annona cacans* e fungicida Procimidone (150 g/100 L) aos 36, 45, 53, 60, 70 e 78 dias após incubação.

Tratamento	Germinação Carpogênica (%)											
	36 DAI		45 DAI		53 DAI		60 DAI		70 DAI		78 DAI	
<i>Annona cacans</i>	0,0	b	0,0	b	1,0	b	5,0	bc	6,5	b	19,5	c
<i>A. cacans</i> – hexânica	1,0	ab	3,5	ab	8,5	ab	9,5	abc	20,0	b	35,5	b
<i>A. cacans</i> – clorofórmica	0,0	b	0,0	b	0,0	b	0,5	c	1,5	c	2,5	d
<i>A. cacans</i> – acetato de etila	0,0	b	0,0	b	0,0	b	0,0	c	0,0	c	0,0	d
<i>A. cacans</i> – hidrometanólica	10,0	a	18,0	a	32,5	a	34,0	a	64,0	a	83,5	a
<i>S. terebinthifolius</i>	0,0	b	0,0	b	0,0	b	0,0	c	0,0	c	4,0	cd
Procimidone	0,0	b	0,5	b	1,5	b	1,5	bc	2,0	c	2,5	d
Testemunha	1,0	ab	5,0	ab	9,5	ab	14,5	ab	30,0	b	44,0	b
CV (%)	44,1		93,0		79,6		70,1		40,5		38,7	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

DAI: dias após incubação; CV: coeficiente de variação.

**Tabela 4.** Germinação carpogênica (%) de *S. sclerotiorum* sob extratos metanólicos (1.000 ppm) de *Geophila repens*, *Guettarda viburnoides*, *Palicourea crocea* e *Trichilia silvatica*, aos 28, 35, 43 e 50 dias após incubação.

Tratamento	Germinação Carpogênica (%)							
	28 DAI		35 DAI		43 DAI		50 DAI	
Testemunha	1,4	a	22,3	a	23,2	a	24,5	a
<i>Guettarda viburnoides</i>	0,0	b	14,4	a	14,4	a	12,0	ab
<i>Trichilia silvatica</i>	0,0	b	11,0	ab	11,5	ab	13,5	a
<i>Palicourea crocea</i>	0,0	b	0,0	b	0,0	b	0,0	b
<i>Geophila repens</i>	0,0	b	0,0	b	0,0	b	0,0	b
CV (%)	28,8		65,2		65,0		61,6	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

DAI: dias após incubação; CV: coeficiente de variação.

**Tabela 5.** Germinação carpogênica (%) de *S. sclerotiorum* sob extratos metanólicos (1.000 ppm) de *Geophila repens*, *Guettarda viburnoides*, *Palicourea crocea* e fungicida procimidone (150 g/100 L) aos 30, 38, 45 e 52 dias após incubação.

Tratamento	Germinação Carpogênica (%)							
	30 DAI		38 DAI		45 DAI		52 DAI	
<i>Guettarda viburnoides</i>	8,5	a	21,5	a	29,0	a	30,5	a
<i>Palicourea crocea</i>	0,5	b	2,5	b	2,5	c	3,5	c
<i>Geophila repens</i>	0,5	b	4,5	b	8,5	b	12,0	b
Procimidone	0,0	b	0,5	c	5,5	bc	11,0	b
Testemunha	1,5	ab	9,5	ab	20,0	ab	25,5	a
CV (%)	62,8		52,4		40,8		32,1	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

DAI: dias após incubação; CV: coeficiente de variação.

de *Trichilia* sp. não diferiu da testemunha nos dois ensaios em que foi testado.

O extrato de *Guettada speciosa* possui alcaloides, flavonoides, triterpenoides, carboidratos, taninos e fenóis que se mostraram efetivos na inibição de *Aspergillus niger* e *Candida albicans* (THAMIZHVANAH et al., 2010). Entretanto, para a germinação carpogênica do patógeno estudado no presente trabalho, esses compostos não apresentaram atividade inibitória.

No quinto ensaio foram utilizados óleo essencial e extratos de caule e folha de *S. terebinthifolius*. O óleo essencial teve comportamento semelhante ao fungicida na primeira avaliação, realizada aos 32 dias após a incubação (Tabela 6).

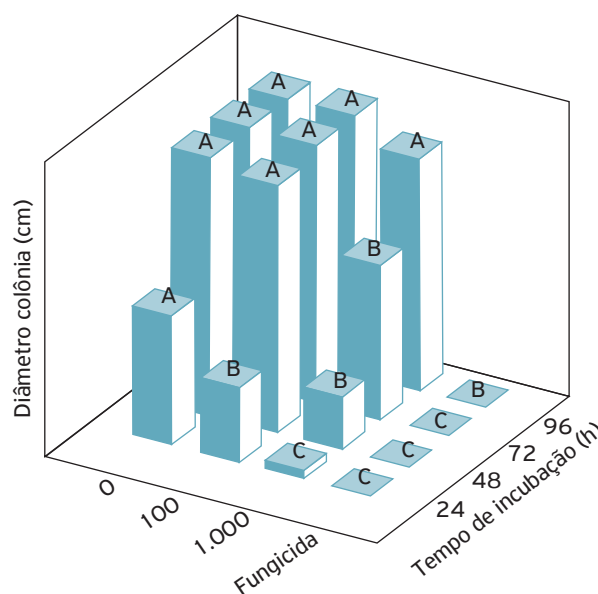
Para infectar o hospedeiro, o fungo *S. sclerotiorum* necessita de uma fonte exógena de energia (ABAWI; GROGAN, 1979), que em muitas culturas são as flores (STEADMAN, 1983), por isso, a época do florescimento é crucial para o estabelecimento da doença. Ao estudarem a podridão de esclerotínia em plantas de colza, YOUNG; WERNER (2012) verificaram que as pétalas das flores são a principal rota de infecção do patógeno. Desta forma, considerando que a janela de infecção pelo patógeno ocorre no florescimento, mesmo os extratos que inibem apenas temporariamente a germinação carpogênica, ou seja, no período de florescimento da cultura, têm potencial para controle da doença, pois, quando ocorrer a liberação de esporos pelo apotécio, o período de maior predisposição da cultura à infecção terá sido ultrapassado. Esse efeito foi observado neste trabalho, pois na primeira avaliação a germinação carpogênica sob o óleo de *S. terebinthifolius* foi baixa, semelhantemente à germinação carpogênica sob o fungicida. Somente na segunda avaliação, realizada aos 40 dias, é que houve aumento de apotécios neste tratamento em relação ao fungicida (Tabela 6).

O efeito estimulante da germinação carpogênica sob alguns extratos pode ser positivo do ponto de vista do manejo do mofo branco, pois estimular a germinação de escleródios sob culturas não hospedeiras, na entressafra ou evitando-se a fase mais vulnerável da cultura à infecção pelo patógeno, pode diminuir a incidência da doença.

## Crescimento micelial sob diferentes extratos vegetais

O crescimento micelial de *S. sclerotiorum* também foi avaliado nas concentrações de 0, 100 e 1.000 ppm do óleo essencial de *S. terebinthifolius*. Nas avaliações realizadas até 72 horas após a incubação, a maior concentração proporcionou inibição do crescimento da colônia. Entretanto, o fungo continuou a crescer, igualando-se à testemunha (0 ppm) na última avaliação (Fig. 2). A inibição do crescimento micelial foi de 10% na maior concentração (Tabela 7).

Esses resultados estão de acordo com outros trabalhos, em que o patógeno *S. sclerotiorum* não foi afetado pela utilização de óleo ou extrato de *Schinus*. PANSERA et al. (2011a)



**Figura 2.** Diâmetro (cm) da colônia de *S. sclerotiorum* em meio de cultura BDA, sob diferentes concentrações de óleo essencial de *S. terebinthifolius* e fungicida Procimidone (150 g/100 L), após 24, 48, 72 e 96 horas de incubação. Médias seguidas da mesma letra em cada tempo de avaliação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 6.** Germinação carpogênica (%) de *S. sclerotiorum* sob extratos metanólicos, óleo essencial (1.000 ppm) de *Schinus terebinthifolius* e fungicida procimidone (150 g/100 L) aos 32, 40, 48 e 56 dias após incubação.

Tratamento	Germinação Carpogênica (%)							
	32 DAI		40 DAI		48 DAI		56 DAI	
<i>Schinus terebinthifolius</i> (caule)	27,5	a	83,0	a	91,3	a	92,5	a
<i>Schinus terebinthifolius</i> (óleo)	7,5	b	41,0	a	67,5	a	77,5	a
<i>Schinus terebinthifolius</i> (folha)	18,8	ab	43,0	ab	52,5	ab	56,3	ab
Procimidone	6,9	b	16,0	b	22,5	b	24,5	b
CV (%)	15,5		46,0		54,4		62,7	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DAI: dias após incubação; CV: coeficiente de variação.

**Tabela 7.** Inibição do crescimento micelial (%) de *S. sclerotiorum* sob três concentrações de óleo essencial de *S. terebinthifolius* e fungicida Procimidone (150 g/100 L), após 96 horas de incubação

Tratamentos	Inibição (%)	
0 ppm	0,0	c
100 ppm	0,0	c
1.000 ppm	10,0	b
Procimidone	100,0	a
CV (%)	32,1	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

observaram que o óleo essencial de *S. terebinthifolius* não controlou o crescimento micelial de *S. sclerotinia* em nenhuma das concentrações testadas, e GARCIA *et al.* (2012) verificaram que o extrato de *S. molle* inibiu somente 2,7% o crescimento micelial do fungo, não diferindo da testemunha.

Entretanto, o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* foi inibido em média em 20% nas concentrações de 3 e 4% do extrato de *S. terebinthifolius* quando comparado à testemunha, mostrando resultados efetivos na redução do desenvolvimento do patógeno (LIMA *et al.*, 2010). De acordo com MATOS (1988), a mesma espécie

botânica pode apresentar diferenças em sua composição química, em função de sua ocorrência em diferentes regiões. A análise cromatográfica do óleo essencial de *S. terebinthifolius* proveniente de frutos colhidos no horto de plantas medicinais da UFGD identificou predominância de monoterpenos em sua composição, destacando-se como principal constituinte o  $\beta$ -pineno (FORMAGIO *et al.*, 2011), fitoconstituente com ação inibitória em bactérias como *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae* e *S. pyogenes* (LEITE *et al.*, 2007). Portanto, sugerem-se que novos estudos sejam realizados utilizando outras concentrações do óleo proveniente de frutos para verificar seu efeito sobre o patógeno.

## CONCLUSÃO

Os extratos de *A. cacans*, *G. repens*, *P. crocea* e as frações clorofórmica e acetato de etila de *A. cacans* apresentaram atividade antifúngica na germinação carpogênica de *S. sclerotiorum*.

O óleo essencial de *S. terebinthifolius* na concentração de 1.000 ppm apresentou atividade antifúngica no crescimento micelial do patógeno.

## REFERÊNCIAS

- ABAWI, G.S.; GROGAN, R.G. Epidemiology of diseases caused by *Sclerotinia* species. *Phytopathology*, v.69, n.8, p.899-904, 1979.
- BOLLAND, G.J.; HALL, R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, v.16, n.2, p.93-108, 1994.
- CAWAN, M.M. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, v.12, n.4, p.564-582, 1999.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.
- FORMAGIO, A.S.N.; IRIGUCHI, E.K.K.; ROVEDA, L.M.; VIEIRA, M.C.; CARDOSO, C.A.L.; ZARATE, N.A.H.; TABALDI, L.A.; KASSUYA, C.A.L. Chemical compositions and anti-inflammatory activity of the essential oil of *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) fruits. *Latin American Journal of Pharmacy*, v.30, n.8, p.1555-1559, 2011.
- FORMAGIO, A.S.N.; MASETTO, T.E.; BALDIVIA, D.S.; VIEIRA, M.C.; ZARATE, N.A.H.; PEREIRA, Z.V. Potencial alelopático de espécies da família Annonaceae. *Revista Brasileira de Biociências*, v.8, n.4, p.349-354, 2010.
- GARCIA, R.A.; JULIATTI, F.C.; BARBOSA, K.A.G.; CASSEMIRO, T.A. Atividade antifúngica de óleo e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. *Bioscience Journal*, v.28, n.1, p.48-57, 2012.
- GOTTLIEB, O.R.; MAGALHÃES, M.T. Modified distillation trap. *Chemist Analyst*, v.49, n.4, p.114, 1960.
- JORGE, T.C.M. *Estudo químico e farmacológico de duas espécies da família rubiaceae: Cephalanthus glabratus e Palicourea crocea*. 225f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2005.
- LEITE, A.M.; LIMA, E.O.; SOUZA, E.L.; DINIZ, M.F.F.M.; TRAJANO, V.N.; MEDEIROS, I.A. Inhibitory effect of  $\beta$ -pinene,  $\alpha$ -pinene and eugenol on the growth of potential infectious endocarditis causing Gram-positive bacteria. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v.43, n.1, p.121-126, 2007.
- LIMA, N.B.; MARQUES, M.W.; CAIXETA, L.; NAUE, C.R. Avaliação do extrato de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) sobre o crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides* in vitro. In: JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 10., 2010, Recife. *Anais...* Recife: UFRPE, 2010.

- LIMA, V.S.; MAGNANI ZAMBENEDETTI, E.B.; MARQUES, C.A.G. Avaliação in vitro do efeito de *Annona crassiflora* Mart e *Annona coreacea* Mart sobre a germinação de uredosporos do fungo *Phakopsora pachyrhizi* causador da ferrugem asiática na soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 40., 2007, Maringá. *Fitopatologia Brasileira*, v.32, 2007, p.S112.
- MARQUES, C.A.G.; MAGNANI ZAMBENEDETTI, E.B.; LIMA, V.S.; ZAMBENEDETTI, G.B.; SOUPINSKI, J. Avaliação in vitro do extrato hexânico de *Annona crassiflora* Mart e *Annona coreacea* Mart sobre o fungo *Alternaria solani* (Ell. & Martin) Jones & Grout, causador da pinta-preta em tomateiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 40., 2007, Maringá. *Fitopatologia Brasileira*, v.32, 2007, p.S113.
- MATOS, F.J.A. *Introdução à Fitoquímica experimental*. Fortaleza: EUFC, 1988. 128p.
- PANSERA, M.R.; VICENÇO, C.B.; CONTE, R. I.; SARTORI, V.C.; RIBEIRO, R.T.S. Inibição do crescimento de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary com a utilização de óleos essenciais de *Cinnamomum canphora* Nees & Eberm variedade linalolifera e *Schinus terebinthifolius* Raddi. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 44., 2011, Bento Gonçalves. *Tropical Plant Pathology*, v.36, 2011, p.S588.
- RÊGO, C.M.; SANTOS, F.S.; BOMFIM, B.S.A.; RODRIGUES, C.S.; COSTA, J.A.S.; MACHADO, L.L. Atividade antifúngica de extratos de *Annona crassiflora* (Mart.), *Eugenia dysenterica* (DC.) e *Lafoensia pacari* (St. Hil.) sobre *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 44., 2011, Bento Gonçalves. *Tropical Plant Pathology*, v.36, 2011, p.S832.
- RODRIGUES, E.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; FIORI-TUTIDA, A.C.G.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de alface em sistema de cultivo orgânico contra *Sclerotinia sclerotiorum* pelo extrato de gengibre. *Summa Phytopathologica*, v.33, n.2, p.124-128, 2007.
- SIERRA-HAYER, J.F.; PASSADOR, M.M.; BALDIN, E.L.; BETELONI, F.G.; FURTADO, E.L. Efeito de extratos aquosos no crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* isolado de seringueira. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 42., 2009, Rio de Janeiro. *Tropical Plant Pathology*, v.36, 2009, p.S728.
- SILVA, L.J.; SILVA, M.S.; SILVA, L.N.; RABELLO, A.R.; ALVES, R.S.; ESPÍNDOLA, L.S.; PAULA, J.E.; VIEIRA, E.A.; LIMA, T.R.; ANJOS, J.R.N. Fungos fitopatogênicos de soja são sensíveis a extratos orgânicos de planta “fruta-do-conde”, nativa do cerrado do gênero *Annona* sp. (Família *Annonaceae*). In: SIMPOSIO NACIONAL CERRADO, 9.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL SAVANAS TROPICAIS, 2., 2008, Brasília. *Anais... Planaltina: Embrapa Cerrados*, 2008.
- STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S.; NOZAKI, M.H. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, v.23, n.11, p.16-21, 1999.
- STEADMAN, J.R. White-mold – a serious yield-limited disease of bean. *Plant Disease*, v.67, n.4, p.346-350, 1983.
- SUFFREDINI, I.B.; PACIENCIA, M.L.B.; VARELLA, A.D.; YOUNES, .N. Antibacterial activity of Brazilian amazon plant extracts. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v.10, n.6, p.400-402, 2006.
- THAMIZHVANAH, K.; KUMAR, P.; BACHALA, T.; MOHAN, D.M.; KRISHNAKISHORE, P.; KUMAR, K.P. Antibacterial and antifungal activities of various extracts of *Guettarda speciosa* L. *International Journal of Phytopharmacology*, v.1, n.1, p.20-22, 2010.
- YOUNG, C.S.; WERNER, C.P. Infection routes for *Sclerotinia sclerotiorum* in apetalous and fully petalled oilseed rape. *Plant Pathology*, v.61, n.4, p.730-738, 2012.