

## Óleos essenciais no controle *in vitro* de *Scytalidium* sp. da palma forrageira

Valdeir de Souza Oliveira<sup>1\*</sup>, Mirelly Miguel Porcino<sup>2</sup>, Eryadison Flávio Bonifácio de Araújo<sup>3</sup>, Bruna Thalia Silveira Sabino<sup>4</sup>, Jucilene Silva Araújo<sup>5</sup>, Luciana Cordeiro do Nascimento<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Doutorando em Agronomia, Universidade Federal da Paraíba, Brasil. (\*Autor correspondente: valdeir.agronomo@hotmail.com)

<sup>2</sup>Doutora em Agronomia, Universidade Federal da Paraíba, Brasil.

<sup>3</sup>Graduando em Agronomia, Universidade Federal da Paraíba, Brasil.

<sup>4</sup>Graduanda em Agronomia, Universidade Federal da Paraíba, Brasil.

<sup>5</sup>Pesquisadora do Instituto Nacional do Semiárido, Paraíba, Brasil.

<sup>6</sup>Professora Titular de Fitopatologia da Universidade Federal da Paraíba, Brasil.

Histórico do Artigo: Submetido em: 05/11/2022 – Revisado em: 10/12/2022 – Aceito em: 06/01/2023

### RESUMO

A palma forrageira tornou-se muito importante para o setor agropecuário do nordeste brasileiro, embora seja adaptada as condições semiáridas, a cultura da palma forrageira é acometida por problemas fitossanitários, principalmente os de natureza fúngica, com destaque o fungo *Scytalidium* sp. que apresenta alta incidência e agressividade sobre a cultura. Nesse contexto, esse trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de óleos essenciais no controle *in vitro* de *Scytalidium* sp. da palma forrageira. O experimento *in vitro* foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia (LAFIT) pertencente ao Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Campus II, Areia, Paraíba. Para condução do experimento foi utilizado o fungo *Scytallidium* sp., isolado de amostras de palma forrageira oriundas de área de cultivo do município de Monteiro-PB. Foram empregados os tratamentos: Testemunha (água esteril), Fungicida Tiabendazol® (400 ml/100 L<sup>-1</sup>) e os óleos essenciais: citronela, manjerição, eucalipto e capim limão concentração de 1%. O óleo essencial de manjerição foi eficiente no controle de *Scytalidium* sp. em todas variáveis avaliadas, se equiparando ao efeito do fungicida Tiabendazol. Os óleos de citronela e capim-limão favoreceram o crescimento micelial do *Scytalidium* sp. Dessa forma o óleo essencial de Manjerição pode ser utilizado no controle *in vitro* de *Scytalidium* sp. da palma forrageira. Os óleos de citronela e capim limão não são indicados para o controle *in vitro* de *Scytalidium* sp. da palma forrageira.

**Palavras-Chaves:** Manejo alternativo, Fitopatógeno, Semiárido.

## Essential oils in the *in vitro* control of *Scytalidium* sp. of the forage palm

### ABSTRACT

The forage cactus has become very important for the agricultural sector in northeastern Brazil, although it is adapted to semi-arid conditions, the culture of cactus cactus is affected by phytosanitary problems, especially those of a fungal nature, especially the fungus *Scytalidium* sp. which has a high incidence and aggressiveness on the culture. In this context, this work aimed to evaluate the efficiency of essential oils in the *in vitro* control of *Scytalidium* sp. of forage palm. The *in vitro* experiment was carried out at the Phytopathology Laboratory (LAFIT) belonging to the Agricultural Sciences Center, Federal University of Paraíba, Campus II, Areia, Paraíba. The fungus *Scytallidium* sp., isolated from forage cactus samples from a cultivation area in the municipality of Monteiro-PB, was used to conduct the experiment. The treatments were used: Control (sterile water), Fungicide Thiabendazole® (400 ml/100 L<sup>-1</sup>) and the essential oils: citronella, basil, eucalyptus and lemon grass concentration of 1%. Basil essential oil was efficient in controlling *Scytalidium* sp. in all variables evaluated, equating to the effect of the fungicide Thiabendazole. Citronella and lemongrass oils favored the mycelial growth of *Scytalidium* sp. Thus, basil essential oil can be used in the *in vitro* control of *Scytalidium* sp. of forage palm. Citronella and lemongrass oils are not indicated for the *in vitro* control of *Scytalidium* sp. of forage palm.

**Keywords:** Alternative management, Phytopathogen, Semi-arid.

Oliveira V. S., Porcino, M. M., Araújo, E. F. B., Sabino, B. T. S., Araújo, J. S., Nascimento, L. C. (2023). Óleos essenciais no controle *in vitro* de *Scytalidium* sp. da palma forrageira. **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v.11, n.2, p.017-023.



## 1. Introdução

A palma forrageira (*Opuntia* spp. e *Nopalea* spp.) tornou-se muito importante para o setor agropecuário do nordeste brasileiro, pois apresenta metabolismo totalmente adaptado às condições climáticas do semiárido (Salvador et al., 2021). Possui cladódios ricos em teor de água (90% do seu peso *in natura*), minerais, vitaminas, carboidratos não fibrosos, além alta aceitação e digestibilidade pelos animais (Silva et al., 2021). No Brasil, a região Nordeste apresenta a maior extensão de terra cultivada com palma forrageira, totalizando mais de 97% da produção dessa cactácea (IBGE, 2017).

Embora seja adaptada as condições semiáridas, a cultura da palma é acometida por vários problemas fitossanitários, principalmente os de natureza fúngica, com destaque o fungo *Scytalidium* sp. Esse patógeno quando associado a palma causa elevados danos nas raquetes devido sua alta severidade, podendo atacar diferentes variedades como orelha de elefante mexicana, gigante, miúda, entre outras. A sintomatologia é caracterizada pelo surgimento de manchas pardas, com aparência escamosa, ocorrendo preferencialmente nas bordas ou na inserção das raquetes e se estende por todo cladódio (Macedo et al., 2020).

Na atualidade, a podridão escamosa que tem como agente causal *Scytalidium* sp. têm se mostrado relevante devido a sua facilidade de disseminação provocando alta incidência e agressividade, no entanto as informações relacionadas à sintomatologia, a patogenicidade e aos prejuízos causados, ainda são escassos na literatura para que medidas de manejo sejam adotadas corretamente. Apesar da importância das doenças para cultura, ainda não existem produtos comerciais registrados para o manejo de doenças, dessa forma, se faz necessário buscar medidas de controle de fitopatógenos de maneira ecológica e eficiente para a palma forrageira.

Nesse contexto, os óleos essenciais (OEs) apresentam-se como alternativa viável no manejo de microorganismos fitopatogênicos, pelo seu elevado potencial antimicrobiano, fungicida e/ou fungistático, bem como pela sua compatibilidade com outros métodos de manejo de doenças, de fácil aquisição, baixo custo e principalmente por ser ecologicamente correto. Os OEs são considerados compostos voláteis, formados no metabolismo secundário das plantas, que apresentam em sua grande maioria compostos majoritários, que conferem seu efeito e ação antimicrobiana (Sharma et al., 2021).

A aplicação dos OEs está se tornando cada vez mais difundida no controle de microorganismos patogênicos, como bactérias, vírus, fungos entre outros (Shaaban, 2020). Nos fungos, os OEs agem estabelecendo um potencial de membrana através da parede celular, interrompendo a montagem de ATP, e consequentemente causando danos na parede celular. Ainda tem a capacidade de desintegrar a membrana mitocondrial, interferindo na via do sistema de transporte de elétrons (ETS) bloqueando a capacidade de germinação dos esporos, levando a morte celular (Becerril, Nerín e Silva, 2020). Diante disso, esse trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de óleos essenciais no controle *in vitro* de *Scytalidium* sp. da palma forrageira.

## 2. Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia (LAFIT) pertencente ao Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Campus II, Areia, Paraíba. Para condução do experimento *in vitro* foi utilizado o fungo *Scytalidium* sp., isolado de amostras de palma forrageira com aproximadamente 3 anos de idade oriundas de área de cultivo do município de Monteiro-PB.

Foram utilizados os tratamentos: Testemunha (água destilada esterilizada – ADE), Fungicida Tiabendazol® (400 ml/100 L<sup>-1</sup>) e os óleos essenciais (OEs): citronela (*Cymbopogon nardus* L.), manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), eucalipto (*Eucalyptus globulus* L.) e capim limão (*Cymbopogon citratus* L.) na concentração de 1%, acrescidos de Tween 80 como dispersante.

Os tratamentos foram acrescidos ao meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), fundente (45-50° C) e vertidos em placa de Petri de 9 cm de diâmetro. No centro de cada placa foi adicionado um disco de colônia fungica de 5 mm de diâmetro, que foram incubadas em estufa tipo B.O.D. com fotoperíodo de 12 horas, sob temperatura de  $28 \pm 2$  °C. Para cada tratamento foram usadas 10 repetições/placas.

Após 24 horas da incubação, foi mensurado diariamente o diâmetro médio das colônias (DMC), em dois sentidos perpendiculares, utilizando uma régua milimetrada, até o preenchimento total da placa pelo fungo. Em comparação com a testemunha, avaliou-se a porcentagem de inibição do crescimento micelial (P.I.C.). O Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM), expresso em  $\text{mm dia}^{-1}$ , foi determinado utilizando a fórmula proposta por Gomes (2008).

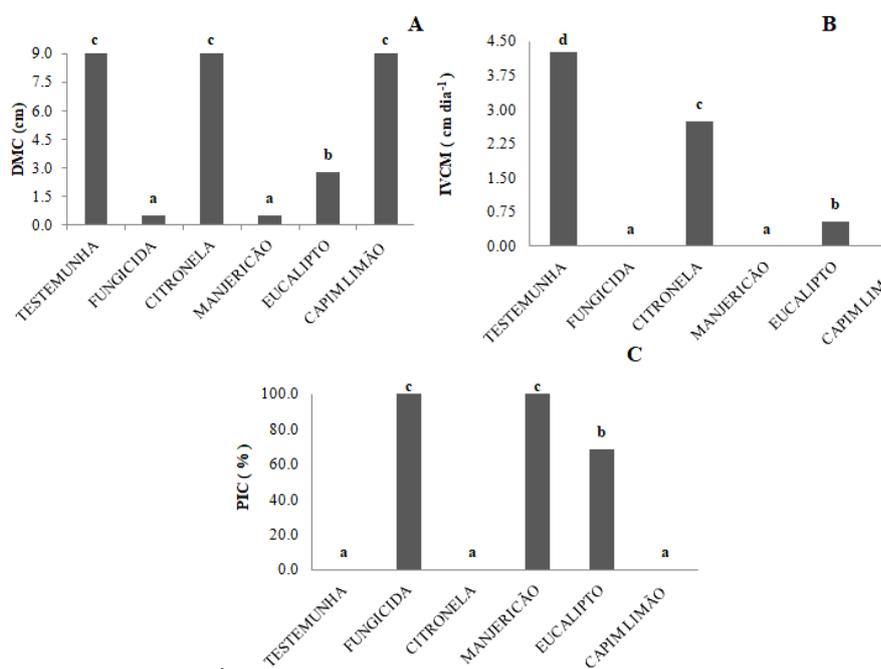
A quantificação de esporos foi realizada ao final do teste, com 10 dias após a incubação. Para esse procedimento, foram adicionados 10 mL de ADE nas placas e com o auxílio de um pincel foram realizadas raspagens para a remoção dos esporos. A suspensão foi filtrada em dupla camada de gaze e a contagem de esporos foi realizada em microscópio óptico com o auxílio de hemacitômetro Alfenas e Mafia (2016). Os resultados foram expressos em esporos  $\times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ . E foi calculado o percentual de inibição da esporulação (PIE), conforme a fórmula utilizada por Fernandes *et al.* (2015).

A análise estatística foi realizada através do software Sisvar (Ferreira, 2019), os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F ( $p < 0,05$ ) e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

### 3. Resultados e Discussão

Os resultados demonstram o quanto o OE de manjeriço foi eficiente no controle de *Scytalidium* sp. quando comparado a testemunha (Figura 1). A composição majoritária do OE de manjeriço é representada por linalol, um monoterpene alcoólico terciário acíclico de fórmula molecular ( $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$ ) (GOMES *et al.*, 2021), que condicionou efeito semelhante aos valores obtidos no tratamento com o fungicida Tiabendazol®, em todos os parâmetros analisados, sendo eles: DMC, IVCM, PIC (%), ESP, PIE (%).

**Figura 1** - (A) Diâmetro médio da colônia (DMC); (B) Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM); (C) percentual de inibição do crescimento micelial (PIC), de *Scytalidium* sp. da palma forrageira sob aplicação de óleos essenciais.

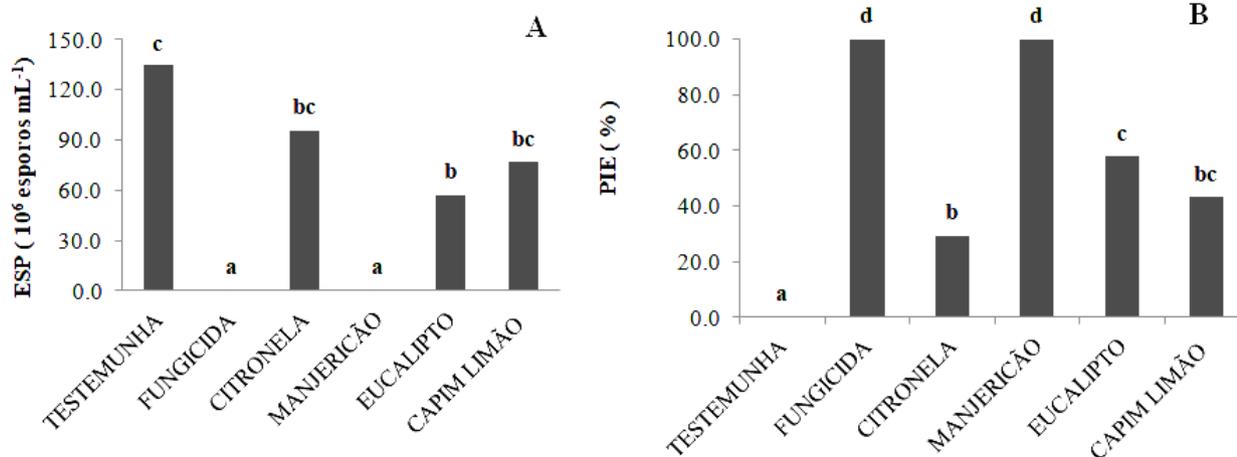


De acordo com a figura 1 A e 1 C, é possível observar que as variáveis DMC e PIC são inversamente proporcionais, indicando que quanto menor for o diâmetro médio da colônia maior será o percentual de inibição de crescimento. É importante salientar que, os tratamentos com o OE de manjerição, e o fungicida Tiabendazol<sup>®</sup> proporcionaram inibição máxima para o crescimento micelial e consequentemente a esporulação das colônias de *Scytalidium* sp. Esse resultado pode ser justificado, pela atividade antifúngica dos OEs que tem uma elevada capacidade de se difundir através das paredes celulares e membrana plasmática, alterando e causando distúrbios nas estruturas de crescimento dos fungos (Portella et al., 2021).

Pereira et al. (2005), estudando sobre a inibição do desenvolvimento fungico utilizando os OEs afirma que o óleo de manjerição apresentou controle sobre microrganismos fúngicos patogênicos bastante satisfatório, como é o caso do *Scytalidium* sp. Dando ênfase aos parâmetros de IVCM e ESP, Tico et al. (2019), em estudo sobre o controle de *Fusarium* sp. identificaram valores semelhantes aos encontrados nesse trabalho em relação a inibição do patógeno utilizando OE de manjerição. Da mesma forma, Kocić-Tanackov et al. (2012), verificaram um potente efeito antifúngico do OE de manjerição contra os fungos *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium glabrum*, *Penicillium chrysogenum*, e *Penicillium brevicompactum* *in vitro*. Com inibição completa do crescimento de *P. chrysogenum* na concentração de 1,5%.

Os resultados de esporulação indicam que o OE de manjerição apresentou efeito fungitóxico inibindo a capacidade de reprodução do patógeno (Figura 2). Ao mesmo tempo proporcionou 100% de inibição de esporulação. É de suma importância que a capacidade reprodutiva do fitopatógeno seja interrompida, uma vez que, quanto menor a esporulação menor será a capacidade de infecção no hospedeiro.

**Figura 2** - (A) Esporulação (ESP) e (B) percentual de inibição da esporulação (PIE) de *Scytalidium* sp. da palma forrageira sob aplicação de óleos essenciais.



Fonte: Autores (2022).

Resultados similares ao do presente trabalho foram encontrados por PIYO et al. (2009), onde o OE de manjerição na concentração de 0,6% promoveu 100% de taxa de inibição do crescimento micelial (ICM) para os fungos patogênicos do arroz dentre eles *Fusarium moniliforme*, *Alternaria brassicicola* e *Pyricularia*

*grisea*. Além disso, também se observou inibição da germinação de esporos de *F. moniliforme* (91%) e *A. brassicicola* (100%). Tais resultados comprovam o potencial antimicrobiano do OE de manjeriço contra uma ampla gama de fitopatógenos de importância econômica.

No óleo essencial de manjeriço são encontrados constituintes químicos, tais como linalol, geraniol, metil eugenol, metil chavicol, p-allanisol, 1,8-cineol, trans- $\alpha$ -bergamoteno e acetato de nerila, constituindo um perfil fitoquímico potencial para atividades farmacológicas com propriedades medicinais e nutracêuticas (Dhama et al., 2021). As aplicações do óleo essencial de manjeriço podem diversificadas, desde sua utilização em sistemas agrícolas, como por exemplo, seus efeitos alelopáticos contra ervas daninhas de folha larga e gramíneas, para potencial uso como bioherbicida biodegradável. Pesquisas indicam que o extrato a base de folhas de manjeriço (em metanol, acetona e água) apresentam capacidade de controlar ervas daninhas em hortas, bem como, apresenta potencial contra fitopatógenos (Mekky et al., 2019).

Portanto, é notável a relevância do uso dos óleos essenciais no controle de fungos na palma forrageira, uma vez que torna a produção mais sustentável e diminui custos em relação a aquisição de fungicidas comerciais. De acordo com os resultados é possível indicar a utilização do óleo essencial de manjeriço em programas de manejo de doenças em palma forrageira. No entanto, ainda se faz necessário a realização de ensaios *in vivo* e em campo para confirmar o potencial fungistático do óleo essencial de manjeriço.

#### 4. Conclusão

O óleo essencial de Manjeriço é eficiente no controle *in vitro* do fungo *Scytalidium* sp. da palma forrageira, com potencial para testes *in vivo* no controle do fungo *Scytalidium*.

Já os óleos essenciais de Citronela e Capim-limão favoreceram o crescimento micelial *in vitro* do fungo *Scytalidium* sp. da palma forrageira, não sendo indicados para o controle desse fungo *in vitro*.

#### 5. Agradecimentos

Ao Instituto Nacional do Semiárido (INSA); à Universidade Federal da Paraíba (UFPB) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

#### 6. Referências

- Alfenas, A. C.; Mafia, R. G. (2016). **Métodos em fitopatologia**. (2 ed.). Viçosa: Editora UFV, 516.
- Becerril, R.; Nerín, C.; Silva, F. (2020). Encapsulation systems for antimicrobial food packaging components: An update. **Molecules**, 25, 5, 1134.
- Dhama, K.; Sharun, K.; Gugjoo, M. B.; Tiwari, R.; Alagawany, M. Yattoo, M. I.; Thakur, P.; Iqbal, H. M. N.; Chaicumpa, W.; Michalak, I.; Elnesr, S. S.; Farag, M. R. A. (2021). Comprehensive Review on Chemical Profile and Pharmacological Activities of *Ocimum basilicum*. **Food Reviews International**.
- Fernandes, L. C. B., Albuquerque, C. C., Júnior, R. S., Oliveira, F. F. M., Gurgel, E. P., Mesquita, M. V., Silva, M. D. S. (2015). Fungitoxicity of plant extracts and essential oil of *Lippia gracilis* Schauer on the fungus *Monosporascus cannonballus* Pollack and Uecker. **Summa Phytopathologica**, 41, 2, 153-155.
- Ferreira, D. F. (2019). Sisvar: a computeranalysis system tofixedeffects split plotttype designs. **Revista**

**brasileira de biometria**, 37, 4, 529-535.

Gomes, A. R. A.; Souza, J. M. A.; Lima, Y. M. M.; Vieira, M. S. T. C.; Lima Júnior, G. V.; Alencar, F. C. (2021). Produção de sabonetes artesanais a partir do óleo essencial do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.). **Revista Semiárido De Visu**, 9, 1, 25-35.

Gomes, L. I. S. (2008). **Métodos de inoculação de *Colletotrichum gloeosporioides* e efeitos de óleos essenciais no controle da antracnose em frutos de mamoeiro**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, MG, Brasil, 58.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (2017). **Censo Agropecuário**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/6957>>. Acesso em: 29/11/2021.

Kocić-Tanackov, S. D.; Dimić, G. R.; Pejin, D. J.; Mojović, L. V.; Pejin, J. D.; Tanackov, I. J. (2012). Antifungal activity of the basil (*Ocimum basilicum* L.) extract on *Penicillium aurantiogriseum*, *P. glabrum*, *P. chrysogenum*, and *P. brevicompactum*. **Acta Periodica Technologica**, 43, 43, 247-256.

Macêdo, A. J. S.; Cesar Neto, J. M.; Oliveira, L. B.; Edvan, R. L.; Santos, E. M. (2020). A cultura da palma, origem, introdução, expansão, utilidades e perspectivas futuras: Revisão de Literatura. **Brazilian Journal of Development**, 6, 8, 62967-62987.

Mekky, M. S.; Hassanien, A. M. A.; Kamel, E. M.; Ismail, A. E. A. (2019). Allelopathic effect of *Ocimum basilicum* L. extract on weeds and some crops and its possible use as new crude bio-herbicide. **Annals of Agricultural Sciences**, 64, 206-210.

Moreira, J. M.; Pérez-Marin, A. M.; Araújo, J. S.; Lambais, G. R.; Sales, A. T. (2020). Nutrients demand of cactus forage. **Revista Brasileira de Geografia Física**, 13, 2, 811-820.

Pereira, M. C. P.; Vilela, G. R.; Costa, L. M. A. S.; Silva, R. F.; Fernandes, A. F.; Fonseca, E. W. N.; Piccoli, R. H. (2006). Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, 30, 4, 731-738.

Piyo, A., Udomsilp, J., Khang-Khun, P., Thobunluepop, P. (2009). Antifungal activity of essential oils from basil (*Ocimum basilicum* Linn.) and sweet fennel (*Ocimum gratissimum* Linn.): alternative strategies to control pathogenic fungi in organic rice. **Asian Journal Of Food & Agro-industry**, 2-9.

Portella, J.; Orlandi, R. C.; Almeida, J.; Koefender, J.; Schoffel, A.; Nicolodi, J. C. (2021). Óleos essenciais no controle *in vitro* de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Revista Thema**, 19, 3, 615-621.

Salvador, K. R. S.; Jardim, A. M. R. F.; Araújo Júnior, G. N.; Alves, C. P.; Pinheiro, A. G.; Pereira, R. C. G.; Souza, L. S. B.; Silva, T. G. F. (2021). Intensificação de sistemas de produção de palma forrageira por meio de consorciação rotativa com gramíneas, leguminosas e oleaginosas: uma revisão. **Revista Brasileira de Geografia Física**, 14, 4, 2369-2390.

Shaaban, H. A. (2020). Essential Oil as Antimicrobial Agents: Efficacy, Stability, and Safety Issues for Food Application. In: **Essential Oils – Bioactive Compounds, New Perspectives and Applications**, 1-33.

Sharma, S.; Barkauskaite, S.; Jaiswal, A. K.; Jaiswal, S. (2021). Essential oils as additives in active food

packaging. **Food Chemistry**, 343, e128403.

Silva, M. V.; Pandorfi, H.; Almeida, G. L. P.; De Lima, R. P.; Santos, A.; Jardim, A. M. R. F.; Silva, D. C. (2021). Spatio-temporal monitoring of soil and plant indicators under forage cactus cultivation by geoprocessing in Brazilian semi-arid region. **Journal of South American Earth Sciences**, 107, e103155.

Tico, B. M.; Silva, H. F.; Silva, E. C.; Silva, G. R.; Nascimento, L. C. (2019). Óleos essenciais no controle de *Fusarium* sp. da cana de açúcar *in vitro*. **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, 7, 3, 70-79.