



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL
DE PERNAMBUCO**
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
FITOPATOLOGIA**

Dissertação de Mestrado

**PROSPECÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS PARA O
CONTROLE DA MURCHA DE ESCLERÓCIO EM AMENDOIM**

Yrlânia de Lira Guerra

**Recife – PE
2013**

YRLÂNIA DE LIRA GUERRA

**PROSPECÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS PARA O
CONTROLE DA MURCHA DE ESCLERÓCIO EM AMENDOIM**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Fitopatologia

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO

Orientador: Professor Dr. Péricles de Albuquerque Melo Filho/ UFRPE

Co-orientadores: Dra. Roseane Cavalcanti dos Santos/ EMBRAPA-ALGODÃO

Professor Dr. Delson Laranjeira/ UFRPE

RECIFE-PE
FEVEREIRO – 2013

Ficha catalográfica

G934p Guerra, Yrlânia de Lira
Prospecção de óleos essenciais para o controle da
murcha de esclerócio em amendoim / Yrlânia de Lira
Guerra. - Recife, 2013.
48 f. : il.

Orientador: Pérciles de Albuquerque Melo Filho.
Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade
Federal Rural de Pernambuco, Departamento de
Agronomia, Recife, 2013.
Referências.

1. *Arachys hypogaea* 2. Controle 3. *Sclerotium rolfsii*
I. Melo Filho, Pérciles de Albuquerque, orientador II. Título

CDD 632

**PROSPECÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS PARA O CONTROLE DA MURCHA DE
ESCLERÓCIO EM AMENDOIM**

YRLÂNIA DE LIRA GUERRA

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 26/02/2013.

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Péricles de Albuquerque Melo Filho

EXAMINADORES:

Elineide Barbosa de Souza

Genira Pereira de Andrade

Delson Laranjeira

RECIFE-PE
FEVEREIRO – 2013

À minha mãe, Maria de Fátima, que sempre me ensinou a lutar pelos meus objetivos e enfrentar todo e qualquer obstáculo de cabeça erguida; a minha irmã e segunda mãe, Myrzânia, pelo apoio, dedicação, conselhos, companheirismo, zelo, carinho e risadas.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por todas as bençãos e vitórias concedidas a mim, pela sua proteção e força para concluir este trabalho;

Agradeço ao meu orientador professor Dr. Péricles de Albuquerque Melo Filho, que é um grande exemplo de inteligência, amizade e dedicação;

À Dra. Roseane Cavalcanti dos Santos, pela co-orientação, amizade, paciência, disponibilidade, atenção, carinho e incentivo;

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, pelo apoio institucional e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), pela concessão da bolsa de pesquisa; Meus sinceros agradecimentos aos professores do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia que contribuíram para a minha formação.

Aos meus colegas, que sempre ajudaram nos trabalhos em laboratório, Myrzânia e Rosana; aos que me ajudaram na casa vegetação Thiago, Gerckson, Felipe e Augusto;

Aos meus carismáticos companheiros do Laboratório de Fungos de solo da UFRPE: Rejane e Leonardo; aos do Laboratório de Expressão Gênica (LABEG): Isabel, Kaliny, Jacqueline, Rosana, Jéssica, Thiago, Gerckson e Felipe pela amizade, apoio, cafezinhos, comilança, risadas e por tantos momentos alegres;

À Leila e Greecy, eternas companheiras, sendo meu alicerce nos momentos de turbulência, nos momentos de indecisão e em muitos momentos felizes;

Ao Prof. Dr. Delson Laranjeira, por ter cedido espaço no Laboratório de Fungos de Solos;

À Rejane, pela eterna amizade e por sempre acreditar em mim;

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	iv
SUMÁRIO.....	v
RESUMO GERAL.....	vi
GENERAL ABSTRACT.....	vii
CAPÍTULO I.....	1
INTRODUÇÃO GERAL.....	2
Murcha de esclerócio.....	4
Controle alternativo de fitopatógenos com óleos essenciais.....	6
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	10
CAPÍTULO II – Potencial uso de óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas no controle da murcha de esclerócio em amendoim.....	16
RESUMO.....	17
INTRODUÇÃO.....	18
MATERIAL E MÉTODOS.....	20
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
REFERÊNCIAS.....	34
CONCLUSÕES GERAIS.....	40

RESUMO GERAL

O Brasil é um dos maiores produtores agrícolas mundiais do amendoim e sua produção é limitada por pragas e doenças. Dentre as doenças, destaca-se a murcha de esclerócio que causa grandes perdas na agricultura por apresentar mais de 500 hospedeiros e estar presente em todas as regiões tropicais. Avaliou-se o efeito dos óleos essenciais no controle da murcha de esclerócio tendo como cultura de referência ao amendoim. Foram testados quatro isolados de *Sclerotium rolfsii* avaliando-se a sua taxa de crescimento micelial em BDA (batata, dextrose e ágar) e patogenicidade no amendoim (cv. BR 1). O isolado SR5 foi o que apresentou a maior taxa de crescimento e o mais agressivo. Os sete óleos essenciais foram selecionados pela realização do bioensaio de inibição, com concentrações previamente estabelecidas, tendo como dosagem referencial 1000 ppm. Sendo novamente selecionados a baixas concentrações, a partir de 500 ppm. O óleo de Palmarosa foi o que apresentou a maior taxa de inibição de formação de esclerócios, na menor dose testada (300 ppm). O teste de supressão da difusão do ácido oxálico, foi realizado com o isolado mais agressivo (SR5), com o óleo de Palmarosa a 400 ppm, o qual reduziu a taxa de crescimento micelial em 55%. Para o teste de estabelecimento do patógeno no substrato Baseplant e de patogenicidade nos genótipos de amendoim em casa de vegetação utilizou-se dois genótipos, BR 1 e Senegal. O ensaio realizado com substrato recebeu adição de 40 g de P₂O₅ + 15 g KCl + 200 g de húmus/Kg como adubação básica. O genótipo BR 1, foi mais suscetível que Senegal, o isolado SR5 mostrou-se mais agressivo, provocando maior índice de doença quando cultivado apenas em substrato. O ensaio de validação do óleo contra *S. rolfsii* em casa de vegetação, foi realizado com sete tratamentos e ao final do ciclo da cultura observou-se um ganho de 54% no peso das vagens, 57% no número de vagens/planta e 40% no índice de colheita.

Palavras-chave: *Sclerotium rolfsii*, inibição de crescimento, controle alternativo, oleaginosa.

GENERAL ABSTRACT

Brazil is a major producer of world agricultural production is limited by pests and diseases. Among the diseases *Sclerotium rolfsii* Sacc. is a fungus that causes major losses in agriculture by presenting more than 500 hosts and is present in all tropical regions. The effect of essential oils in control of wilt sclerotia, culture as having reference to the peanut crop, with subsequent recommendation in agricultural management, with a segment phytopathological. Using four different isolates of *S. rolfsii* was conducted mycelial growth rate, followed by the pathogenicity test in the peanut plants (cultivar BR 1), the SR5 was isolated which had the highest growth rate and more aggressive. The seven essential oils were selected for bioassay of inhibition at concentrations previously established, with the reference dosage of 1000 ppm. Being selected again at low concentrations, from 500 ppm, Palmarosa oil which was showed the highest inhibition rate of formation of sclerotia, the lowest dose tested that was 300 ppm. In the test of suppression of diffusion of oxalic acid was performed with the more aggressive isolated (SR5) with palmarosa oil at 400 ppm, which reduced the rate of mycelial growth by 55%. The bioassay establishment of the pathogen in the substrate and pathogenicity in peanut genotypes in a greenhouse with two genotypes, BR 1 and Senegal. The assay was performed with substrate Baseplant being added 40 g de P₂O₅ + 15 g KCl + 200 g de humus/kg substrate fertilized. BR Genotype 1 was more susceptible than Senegal, isolated SR5 was more aggressive, leading to higher rates of disease when grown only in substrate. In the validation assay of the oil against *S. rolfsii* in the greenhouse, was held with seven treatments and at the end of the cycle there was a weight gain of 54% of the pods, 57% in the number of pods/plant and harvest index of 40%.

Keywords: *Sclerotium rolfsii*, growth inhibition, alternative control, oilseed.

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO GERAL

PROSPECÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS PARA O CONTROLE DA MURCHA DE ESCLERÓCIO EM AMENDOIM

INTRODUÇÃO GERAL

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é uma dicotiledônea pertencente à família *Fabaceae*, pertence o gênero *Arachis*, que surgiu como resultado fértil do cruzamento das espécies de *A. duranensis* Krapov e *A. ipaensis* Krapov (SINGH; SMARTT, 1998). Existe mais de 80 espécies silvestres, anuais e perenes. O Brasil tem mais de 63 espécies desse gênero, sendo 46 exclusivas do Brasil (KRAPOVICKAS; GREGORY, 1994). É uma planta nativa da América do Sul, com cinco países como centro de origem: Argentina, Bolívia, Brasil, Paraguai e Uruguai (PEÑALOSA; VALLS, 1999; HOLBROOK; STALKER, 2002).

O amendoimzeiro é uma planta herbácea de ciclo curto, com crescimento ereto ou rasteiro, de 25-50 centímetros de altura, possui folhas pinadas de quatro folíolos largos e ovais, com flores amarelas de estrias vermelhas que crescem nas axilas das folhas. Uma vez caída à corola, a flor se dobra, o ovário se prolonga e obriga o fruto a penetrar no solo, onde ocorre a maturação da vagem, contendo um a cinco e, geralmente, de dois a quatro sementes (BELTRÃO et al., 2009). Essa cultura é cultivada em diversas condições ambientais, nos mais diferentes tipos de solo, entretanto se desenvolve bem nos solos com boa drenagem, fertilidade razoável, textura arenosa e com disponibilidade hídrica (BOLONHEZI; GODOY; SANTOS, 2005). As temperaturas ideais para seu desenvolvimento são médias de 35°C diurnas e 25°C noturna (SUASSUNA; SUASSUNA; ALBUQUERQUE, 2006). Os frutos do amendoim desenvolvem-se embaixo do solo, portanto, necessita de solos com textura arenosa ou franco-arenosa, com o pH na faixa de 6,0 a 6,2 (BOLONHEZI; GODOY; SANTOS, 2005).

Essa cultura é disseminada por mais de 80 países da América, Ásia e África (SINGH; SINGH, 1992; MORETZSOHN et al., 2004), sendo cultivado em todos os países tropicais e em regiões temperadas quentes do mundo, por ser uma oleaginosa de ciclo curto (SUASSUNA; SANTOS; GONDIM, 2006). Está inserida na dieta alimentar, principalmente, dos países da África e Ásia, por ser um alimento com um elevado valor nutritivo e calórico. Nas sementes encontram-se cerca de 50% de óleo e 33% de proteína, sendo um alimento que pode contribuir significativamente para melhorar a dieta alimentar da população de baixa renda (GRACIANO, 2009; MELO FILHO; SANTOS, 2010). O amendoim possui um elevado potencial econômico de comercialização do grão com ou sem casca, óleo refinado e do farelo,

como produtos de consumo interno e de exportação (BRUCHER, 1989; SAN MARTIN, 1995).

Do amendoim se extrair o óleo, que apresenta alta qualidade nutricional e de fácil digestão, sendo utilizado em cosméticos, culinária, biocombustível e como medicinal. O óleo tem em sua composição 16% de ácido palmítico, 22% de ácido beênico, sendo hipercolesterolêmico e pode ser relacionado a propriedades aterogênicas (WORTHINGTON; HAMMONS, 1977). Porém, em maior proporção são encontrados os ácidos oléico e o linoléico. A relação existente entre esses dois ácidos é um indicador da estabilidade do óleo do amendoim que tem uma relação direta com o pH do solo (STALKER; YOUNG; JONES, 1989). A percentagem de proteínas pode variar de 21,0 a 36,4% (WOODROOF, 1983; DWIVEDI et al., 1993). O amendoim pode ser usado como farelo para ração animal e fertilizante (FERNANDEZ; ROSOLEM 1998; GOES et al., 2004).

No início dos anos 70, o Brasil era um dos mais importantes produtores de amendoim, com um papel fundamental no suprimento interno de óleo vegetal e na exportação de subprodutos. Em 1972, ocorreu sua maior produção, com cerca de 970 mil toneladas. Na época o produto principal era o óleo, muito utilizado na culinária. A partir de 1974, foi relatado uma contaminação por aflatoxina nos grãos, dentre outros fatores, contribuindo para uma diminuição do preço do produto nos mercados interno e externo. A situação agravou-se com a maior disponibilidade de óleo de soja (*Glycine max* L.), desestimulando o plantio do amendoim. A partir deste período até os anos 90 a cultura sofreu uma forte redução de área plantada e produção (SUASSUNA; SANTOS; GONDIM, 2006).

No Brasil, ocorrem duas safras anuais de amendoim, devido às semeaduras serem em épocas diferentes, variando conforme a região de cultivo. A primeira safra ocorre nas regiões Sul e Sudeste, a segunda safra, além dessas regiões, é realizada também nas regiões Norte (Tocantins), Nordeste e Centro-Oeste. Principalmente nos estados de São Paulo, o maior produtor nacional com 80% da produção, seguido pela Bahia 3,6% e Mato Grosso 2,8%. Em São Paulo a cultura do amendoim é utilizada para a renovação dos canaviais e na Bahia é bastante utilizada nas tradicionais festas juninas. A safra de amendoim em 2012 foi de 324,178 mil toneladas de amendoim, sendo grande parte produzida na região Sul, Sudeste e Centro-Oeste, em 2013 estima-se que a produção não ultrapasse 295 mil toneladas, com redução de 8% da produção (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2013).

No Nordeste brasileiro, o cultivo do amendoim é realizado basicamente por pequenos e médios produtores rurais, com área de plantio de 13,7 mil hectares (COMPANHIA

NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2012), a qual se encontra em franca expansão devido o incentivo da produção de óleo para biodiesel. Esses agricultores utilizam baixo nível tecnológico, sendo cuja produção visa atender principalmente o consumo *in natura* (GRACIANO, 2009). Essa região é o segundo maior pólo consumidor dessa oleaginosa, com uma demanda regional superior a 50 mil toneladas de vagens (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2012). A produção regional, em média é de 10 mil toneladas de amendoim em casca, insuficiente para atender os principais mercados de consumo, como a Bahia, Ceará, Pernambuco, Paraíba e Sergipe (SANTOS; GONDIM; FREIRE, 2006).

O amendoimzeiro está sujeito ao ataque de diversas pragas e doenças, causando-lhes grandes perdas na sua produção. Dentre as doenças destacam-se a murcha de esclerócio que pode causar perdas de até 90% da produção, quando as condições são ideais para o desenvolvimento do patógeno (SANTOS, 2005).

Murcha de esclerócio

A doença murcha de esclerócio em amendoim é causada pelo *Sclerotium rolfsii* Sacc. é um habitante do solo amplamente disseminado por várias regiões produtoras no mundo, causando murchas e podridões em mais de 500 espécies botânicas diferentes de hospedeiros (BARRETO, 2005).

Os sintomas da doença aparecem com lesões no colo da planta no nível do solo na forma de manchas escuras, encharcadas e necrose do tecido, devido à produção de ácido oxálico, uma fitotoxina capaz de matar as células da superfície da planta antes da colonização do fungo (BARRETO, 2005). As lesões afetam a raiz principal, produzindo podridão cortical, causando amarelecimento das folhas, desfolha prematura, murcha e morte da planta. Em plantas que produzem vagens, quando estas ficam próximas ao solo, o micélio ocasiona a podridão (BARRETO, 2005; SILVA; JÚNIOR, 2011). Os danos causados nas raízes podem comprometer a absorção de água e nutrientes, dificultando o crescimento das plantas. As plantas jovens são mais sensíveis, podendo morrer rapidamente, enquanto as mais velhas são mais tolerantes, chegando a não ocasionar a morte da planta, entretanto a produtividade é reduzida (DOMINGUES et al., 2009). O patógeno é caracterizado por formar um emaranhado de hifas na região de ação do fungo, que ao entumecer recebe o nome de esclerócios, inicialmente de coloração branca e posteriormente marrom, com diâmetro de 0,5 a 2,0 mm, originária por hifas laterais (SHURT, 2006).

Esse fungo foi descrito pela primeira vez por Saccardo em 1911. Em 1915, Shaw e Ajrekar na Índia relataram sintomas de uma doença que causava podridão em batatas, sendo o patógeno classificado como *Rhizoctonia destruens* Tassi. Posteriormente em 1930, através de estudos realizados por Ramakrishnan descobriu-se que se tratava do *S. rolfsii*. A fase perfeita desse fungo foi estudada pura por Curzi (1931) que sugeriu o nome de *Corticium* (BASAWARAJ, 2005). Atualmente é classificado como *Athelia rolfsii* (Curzi) C.C. Tu & Kimbr, seu teleomorfo, um basidiomiceto da classe *Agaricomycetes*, causador de damping-off e de podridões de raízes (ZAMBOLIM; JESUS JÚNIOR; PEREIRA, 2012).

O fungo *S. rolfsii* tem predominância nas zonas tropicais e subtropicais, com temperatura entre 27°C a 30°C e elevada umidade, condições ideais para seu desenvolvimento (SERRA; SILVA, 2005). A germinação dos esclerócios no solo é limitada pela disponibilidade de oxigênio, pois na sua ausência a germinação não ocorre. Devido a essa exigência, a germinação de esclerócios em solos argilosos é reduzida, pois o fungo se desenvolve bem próximo à superfície. Em solos arenosos, que tem maior oxigenação e atividade microbiana decompositora, ocorre o estímulo da germinação devido à liberação de nutrientes pelos microrganismos decompositores (BARRETO, 2005).

O patógeno sobrevive principalmente em restos de cultura, produzindo também estrutura de resistência que é o escleródio. Estes podem sobreviver por mais de 10 anos, porém os localizados na superfície do solo sobrevivem por mais tempo que aqueles localizados nas camadas mais internas do solo, com sobrevivência máxima de um ano. Essa sobrevivência é possível devido a camada externa do esclerócio ser melanizada, conferindo ao esclerócio uma proteção à dessecação e aos raios solares ou qualquer condição adversa do ambiente. Esse tipo de estrutura também pode ser observado nos gêneros de *Sclerotinia*, *Botryotinia*, *Monilinia*, *Rizhooctonia* e *Claviceps*, entre outros (ZAMBOLIM; JESUS JÚNIOR; PEREIRA, 2012). A disseminação ocorre pelo uso de solo, esterco, mudas, sementes e bulbos contaminados ou através do homem, animais, vento, água e tratos culturais (BARRETO, 2005).

O controle da murcha de esclerócio é bastante difícil devido à época de semeadura de amendoim ser favorável ao desenvolvimento do fungo e não se ter variedades comerciais resistentes, além disso as práticas são preventivas ou utilizadas para reduzir a quantidade de inóculo no solo e a sobrevivência do fungo, porém, não se consegue eliminar completamente o patógeno da área. As práticas mais recomendadas são: arar profundamente o solo, acelerando a decomposição dos restos de cultura e dos escleródios; evitar o acúmulo de matéria orgânica junto ao colo das plantas; controlar adequadamente as doenças foliares para

evitar a queda de folhas e acúmulo de matéria orgânica superficial no solo; realizar o controle de plantas daninhas, eliminando assim hospedeiros selvagens; aumentar o espaçamento; promover a rotação da cultura por 2 a 4 anos com algodão; fazer o controle biológico com espécies de *Trichoderma* e o controle químico com carboxin (BARRETO, 2005). O controle químico além de ocasionar diversos efeitos nocivos ao ambiente, à saúde humana e aos animais (JESUS JÚNIOR et al., 2007).

O manejo orgânico ou semi-orgânico da lavoura é o mais adotado pelos agricultores familiares, como forma de minimizar custos, porém, há uma lacuna enorme a respeito de informações técnicas que atestem a eficácia de alguns produtos biológicos usados na lavoura para defesa das plantas contra plantas invasoras, fungos e insetos, o que tem sido feito de forma ainda empírica (BELTRÃO et al., 2009).

Controle alternativo de fitopatógenos com óleos essenciais

A flora brasileira possui uma enorme diversidade em espécies, várias delas, de largo aproveitamento para uso direto ou indireto nos processos de fabricação de bioprodutos para fins sanitários, agrícolas ou industriais. No aspecto das espécies produtoras de óleo, a possibilidade de uso para defesa de plantas contra patógenos tem se tornado uma possibilidade promissora de controle de modo mais econômico e ecológico (SOUZA; LORENZI, 2005).

Trabalhos desenvolvidos com extrato bruto ou óleos essenciais, originários de plantas medicinais, têm demonstrado forte potencial no controle de fitopatógenos devido ao seu modo de ação fungitóxica direta, atuando na inibição do crescimento micelial e retardando ou interferindo na germinação de esporos e na indução de fitoalexinas, moléculas, são capazes de ativar ou induzir resposta de defesa nas plantas (MÉDICE et al., 2007; LIMA et al., 2008; KNAAK; FIUZA, 2010).

A possibilidade de uso de tais substâncias no controle de plantas e microrganismos pode envolver o manejo isolado ou integrado, constituindo uma alternativa econômica e ecológica, especialmente considerando-se o custo dos defensivos químicos e seus efeitos causados ao meio ambiente (TAIZ; ZEIGER, 1998; LIMA, 2007).

Na literatura, vários artigos reportam sobre o potencial fungitóxico de óleos essenciais sobre fungos de plantas cultivadas. Mishra e Dubey (1994) investigaram o potencial do óleo essencial do capim-limão (*Cymbopogon citratus* Stapf) sobre os fungos *Penicillium* sp., *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp. e *Botrytis* sp., patógenos em sementes de arroz (*Oryza sativa* L.), verificaram ainda a inibição de crescimento micelial de todos eles na

concentração de 1.500 ppm, essa inibição foi atribuída ao citral, presente em maior concentração nesse óleo essencial. O fungo de semente *Aspergillus* spp. teve seu crescimento completamente inibido quando os grãos de trigo (*Triticum aestivum* L.) foram tratados por 24 horas com os óleos essenciais de orégano (*Origanum vulgare* L.) a 2 ppm e do tomilho (*Thymus captatus* L.) a 4 ppm (PASTER et al., 1995).

Com fungos habitantes de solo, *Fusarium oxysporum* Schlecht. emend. Snyder & Hans, *Rhizoctonia solani* e *S. rolfii*, tiveram seu crescimento micelial inibido quando submetidos a diferentes concentrações do óleo essencial de capim-limão (SOUZA et al., 2003). A atividade antifúngica de diferentes espécies do óleo de copaíba (*Copaífera reticulata* Ducke) e *C. duckei* Dwyer sobre o crescimento micelial de vários fungos de solo na concentração de 2,5 ppm, observou-se a inibição do crescimento micelial de *R. solani* com ambas as espécies, enquanto que para *S. rolfii* e *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid, o melhor resultado de inibição foi obtido com a espécie *C. duckei* (OLIVEIRA et al., 2006). O efeito fungitóxico do óleo de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) sobre *Cladosporium* sp., *Rhizopus* sp. e *Fusarium* spp. em grãos de soja, foi demonstrado no desenvolvimento desses fungos na concentração de 200.000 ppm, com redução de em 75% do crescimento micelial quando comparados à testemunha (GONÇALVES; MATTOS e MORAIS, 2009).

Com fungos de parte aérea, os resultados reportados na literatura são mais diversos. O fungo aéreo *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer, teve sua taxa de crescimento inibida com o óleo de *Piper callosum* Ruiz & Pav a 75 ppm e com 1 ppm para o óleo de *P. marginatum* Jacq. var. *anisatum*. E a *Phytophthora palmivora* (E.J. Butler) E.J. Butler foi inibida na dosagem de 1 ppm com *P. callosum* e *P. enckea* (L.) Griseb (SILVA; BASTOS, 2007). Esses trabalhos demonstram que as espécies do gênero *Piper* são de larga aplicabilidade para trabalhos envolvendo manejo de doenças por meio alternativos.

No controle do *Colletotrichum gossypii* South var. *cephalosporioides* A. S. Costa, o agente causal da ramulose do algodoeiro, os óleos essenciais alecrim de tabuleiro (*Lippia gracillis* Schauer) e citronela (*Cymbopogon nardus* (L.) W. Watson) foram os que apresentaram maior efeito na inibição do crescimento do fungo nas dosagens de 1500-2500 ppm. Em relação à germinação dos conídios e formação de apressórios, os óleos de alecrim de tabuleiro e citronela e eucalipto citriodora (*Eucalyptus citriodora* Hook) promoveram expressivo controle do fungo a partir da concentração de 1.500 ppm (LIMA et al., 2008).

Os óleos essenciais de alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham.), manjerição-cheiroso (*Ocimum gratissimum* L.), eucalipto citriodora (*Eucalyptus citriodora*) e capim-limão inibiram em 100% o desenvolvimento micelial do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*

(Penz.) Sacc., e a germinação dos conídios foi inibida a partir da concentração de 0,1 ppm pelo óleos de alecrim pimenta, manjerição cheiroso e capim-limão (SALES JÚNIOR; MARTINS, 2009).

Grande parte dos autores citados acima realizaram ensaios *in vitro*. Cabe ressaltar, contudo, que apesar dos expressivos resultados obtidos, a necessidade de se validar os resultados em bioensaios *in vivo* é imprescindível em função do ambiente e da variabilidade dos isolados avaliados. Isso é bastante relevante quando se considera a possibilidade de recomendação da tecnologia obtida. O potencial de inibição do óleo essencial do capim-limão sobre isolados *C. gloeosporioides* do mamão (*Carica papaya* L.) foi testado e verificado que esse o óleo essencial a 500.000 ppm inibiu 100% do crescimento micelial nos bioensaios *in vitro*, enquanto que nos bioensaios *in vivo*, a taxa de inibição na concentração de 15.000 ppm foi de apenas 20%, indicando que o ambiente influencia na resposta de inibição (MARQUES et al., 2003). As cultivares de soja MG/BR46 e Suprema tiveram uma redução da severidade da ferrugem asiática de até de 60,7% e 62,3%, respectivamente, quando as folhas foram tratadas com os óleos: eucalipto citriodora a 10.000 ppm, citronela a 5.000 ppm, nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) a 10.000 ppm e tomilho a 3.000 ppm (MÉDICE et al., 2007).

Com o fungo de pré e pós-colheita, *Botrytis cinerea* Persoon ex Fries, o extrato de *C. citriodora* apresentou uma inibição, *in vitro*, no crescimento micelial (ZENI et al., 2004). A inibição deste patógeno, *in vitro*, também foi observada com o extrato alcóolico de *Eucalyptus Globulus* L. (DUARTE et al., 2004). No controle em pós-colheita, relatos da eficiência do óleo de pimenta de macaco (*Piper aduncum* L.) do *Colletotrichum musae* (Berk. & Curt) Arx. em banana (*Musa* spp. L.) (BASTOS; ALBUQUERQUE, 2004).

Tanto o extrato bruto quanto o óleo essencial de plantas medicinais como: alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), manjerona (*Origanum majorana* L.), alfavaca (*Ocimum basilicum* L.), mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.), babosa (*Aloe vera* L.), mil-folhas (*Achillea millefolium* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.), cardo santo (*Argemone mexicana* L.), pitanga (*Stenocalyx michelli* L.), erva cidreira (*Lippia alba* L.), poejo (*Mentha pulegium* L.), hortelã pimenta (*Mentha piperita* L.), romã (*Punica granatum* L.), goiabeira vermelha (*Psidium guayava* L. var. *pomifera*), eucalipto citriodora, manjerição (*Ocimum basilicum* L.), arruda (*Ruta graveolens* L.) e carqueja (*Baccharis trimera* (Lees.) DC) têm sido utilizados para estudos, *in vitro*, de inibição de crescimento micelial e esporulação de fungos fitopatogênicos (*R. solani*, *S. rolfsii*, *A. alternata*, *Phytophthora* sp. e *C. graminicola*) e em bioensaios para a indução de fitoalexinas em sorgo (deoxiantocianidinas) e soja (gliceolina) (SCHWAN-ESTRADA, 2002).

Considerando-se o exposto, os objetivos deste trabalho foram: prospectar e validar óleos essenciais vegetais para o controle da murcha de esclerócio em plantas de amendoim (*A. hypogaea*) com fins de posterior recomendação para manejo isolado ou integrado do patógeno.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARRETO, M. Doenças do amendoim (*Arachis hypogaea*). In: KIMATI, H. In: **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 4^a ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, p. 65-72.
- BASAWARAJ, R. **Studies on potato wilt caused by *Sclerotium rolfsii* Sacc.** 2005. 56f. Dissertação (Mestrado em Patologia de plantas) - University of Agricultural Sciences, Dharwad, Índia, 2005.
- BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, S. B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 5, p. 555-557, 2004.
- BELTRÃO, N. E. M.; SANTOS, R. C.; GONDIM, T. M. S.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; MELO FILHO, P. A. Ecofisiologia e manejo cultural. Amendoim: O produtor pergunta, a Embrapa responde. In: SANTOS, R. C.; FREIRE, R. M. M.; SUASSUNA, T. M. F. **Amendoim: O produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa, 2009. p. 15-38.
- BOLONHEZI, D.; GODOY, I. J.; SANTOS, R. C. Manejo Cultural do Amendoim. In: SANTOS, R. C. (Org.). **O Agronegócio do amendoim no Brasil**, Campina Grande: Embrapa Algodão, 2005. 451p.
- BRÜCHER, H. **Useful plants of neotropical origin and their wild relatives**. Berlin: Springer-Verlag, 1989. 296p.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO-CONAB**. Disponível em:<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_09_06_09_18_33_boletim_graos_-_setembro_2012.pdf>. Acesso em: 23 Set. 2012.
- DOMINGUES, R. J.; SOUZA, J. D. F.; TÖFOLI, J. G.; MATHEUS, D. R. Ação “*in vitro*” de extratos vegetais sobre *Colletotrichum acutatum*, *Alternaria solani* e *Sclerotium rolfsii*. **Arquivo do Instituto de Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 4, p. 643-649, 2009.
- DUARTE, J. A. S.; ZENI, T. L.; BIZI, R. M.; GRIGOLETTI JR., A. Efeito de extratos de *Eucalyptus globulus* sobre o desenvolvimento dos fungos *Botrytis cinerea* e *Cylindrocladium*

spathulatum. In: Confies – Congresso Científico da FIES. **Anais...** Curitiba, Financiamento Estudantil, 2004. CD ROM 2.

DWIVEDI, S. L.; NIGAM, S. N.; JAMBUNATHAN, R.; SAHRWAT, K. L.; NAGABHUSHANAM, G. V. S.; RAGHUNATH, K. Effect of genotypes and environments on oil content and oil quality parameters and their correlation in peanut (*Arachis hypogaea* L.). **Peanut Science**, Raleigh, v. 20, n. 2, p. 84-89, 1993.

FERNANDEZ, E. M.; ROSOLEM, C. A. **Ácidos graxos e proteína em grãos de amendoim em função da calagem e do método de secagem**. 1998. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S000687051998000100004&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 19 Jan. 2013.

GRACIANO, E. S. A. **Estudos fisiológicos e bioquímicos de cultivares de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) submetidas à deficiência hídrica**. 2009. 68f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2009.

GOES, R. H. T. B.; MANCIO, A. B.; VALADARES FILHO, S. C.; LANA, R. P. Degradação ruminal da matéria seca e proteína bruta de alimentos concentrados utilizados como suplementos para novilhos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 1, p. 167-173, 2004.

GONÇALVES, G. G.; MATTOS, L. P. V.; MORAIS, L. A. S. **Óleos essenciais e extratos vegetais no controle de fitopatógenos de grãos de soja**. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 27, n. 2, p. S3299-S3302, 2009.

HOLBOOK, C.C.; STALKER, H.T. Peanut Breeding and genetic Resources. **Plant Breeding Reviews**, 22, p297-355, 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA-IBGE. **Estatística da Produção Agrícola**: Abril de 2011. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/estProdAgr_201104.pdf> Acesso em: 12 Jan. 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA-IBGE. **Sistema IBGE de recuperação automática**. Banco de dados agregados. Brasília: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2012. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/estProdAgr_201203.pdf>. Acesso em: 12 Jan. 2013.

JESUS JUNIOR, W. C. de; POLANCZYK, R. A.; PRATISSOLI, D.; PEZZOPANE, J. E. M.; SANTIAGO, T. **Atualidades em defesa fitossanitária**, Alegre: UFES, Centro de Ciências Agrárias, 2007. p. 384-385.

KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. **Neotropical Biology and Conservation**, São Leopoldo, v. 5, n. 2, p. 120-132, 2010.

KRAPOVICKAS, A.; GREGORY, W. C. Taxonomia del gênero *Arachis* (Leguminosae). **Bonplandia**, Corrientes, v. 8, n. 1-4, p. 1-186, 1994.

LIMA, W. G. **Controle alternativo da ramulose do algodoeiro via utilização de óleos essenciais**. 2007. 89f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2007.

LIMA, W. G., SANTOS, R. C.; CÂMARA, C. A. G.; CÂMARA, M. P. S., MELO FILHO, P. A. Citronella oil inhibits cotton ramulosis in controlled conditions. **Pest Technology**, Canadá, v. 2, n. 1, p. 24-27, 2008.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

MARQUES, M. P. S.; ALVES, E. S. S.; VILCHES, T. T. B.; SANTOS, R. B.; VENTURA, J. A.; FERNANDES, P. M. B. **Uso de óleos essenciais no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da antracnose em frutos do mamoeiro**. 2003. Disponível em:

<<http://www.raizando.com.br/artigos%20ci%C3%AAnt%C3%ADficos/capim%20santo/1%20USO%20DE%20C3%93LEOS%20ESSENCIAIS%20NO%20CONTROLE%20DE%20Colletotrichum%20gloeosporioides.pdf>>. Acesso em: 29 Jan. 2013.

MÉDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R. T.; MAGNO JÚNIOR, R. G.; LOPES, E. A. G. L. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 83-90, 2007.

MELO FILHO, P. A.; SANTOS, R. C. A cultura do amendoim no nordeste: Situação atual e perspectivas. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, v. 7, p. 192-208, 2010.

MISHRA, A. K.; DUBEY, N. K. Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of store food commodities. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 60, p. 1101-1105, 1994.

MORETZSOHN, M. C.; HOPKINS, M. S.; MITCHELL, S. E.; KRESOVICH, S.; VALLS, J. F. M.; FERREIRA, M. E. Genetic diversity of peanut (*Arahis hypogaea* L.) and its wild relatives based on the analysis of hypervariable regions of the genome. **BMC Plant Biology**, London, v. 4, n. 11, p. 4-11, 2004.

OLIVEIRA, E. C. P.; LAMEIRA, O. A.; BARROS, P. L. C.; POLTRONIERE, L. S. Avaliação do óleo de Copaíba (*Copaífera*) na inibição do crescimento micelial *in vitro* de fitopatógenos. **Revista de Ciências Agrárias**, Belém, n. 46, p. 53-61, 2006.

PASTER, N.; MENASHEROV, M.; RAVID, U.; JUVEN, B. Antifungal activity of oregano and thyme essential oils applied as fumigants against fungi attacking stored grain. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 58, n. 1, p. 81-85, 1995.

PEÑALOSA, A. P. S.; VALLS, J. F. M. Número de cromossômico em novas espécies de *Arachis* (Leguminosae). In: SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA A AMÉRICA LATINA E CARIBE (SIRGEALC), 2., 1999, Brasília. **Anais...** Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, 1999. CD-ROM 2.

SALES JÚNIOR, I. T. S.; SALES, N. L. P.; MARTINS, E. R. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. **Revista Biotemas**, Santa Catarina, v. 22, n. 3, p. 77-83, 2009.

SAN MARTIN, P. **Amendoim – uma planta da história no futuro brasileiro**. São Paulo: Ícone Ed. Ltda., 1995. 68p.

SANTOS, R. C. **Agronegócio do amendoim no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2005. 451p.

SANTOS, R. C.; GONDIM, T. M. S, FREIRE, R. M. M. **Cultivo do amendoim**: mercado e comercialização. Embrapa Algodão, 2006. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Amendoim/CultivodoAmendoim/index.html>>. Acesso em: 20 Jan. 2013.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Potencial de extratos e óleos essenciais de vegetais como indutores de resistência plantas medicinais. In: PASCHOLATI, S. F.(Coord.). **Primeira reunião brasileira sobre indução de resistência em plantas contra fitopatógenos: perspectivas para o século XXI**. São Pedro: ESALQ/USP, 2002. p. 27-28.

SERRA, I. M. R. S.; SILVA, G. S. Caracterização biológica e fisiológica de isolados de *Sclerotium rolfsii* obtidos de pimentão no estado do Maranhão. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 1, p. 61-66, 2005.

SHURT, D. A. **Potencial do isotilcianato de alilo no controle de *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum***. 2006. 57f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2006.

SILVA, A. M.; JÚNIOR, J. R. Avaliação da inibição do crescimento micelial de *Sclerotium rolfsii* em diferentes doses de piraclostrobin + tiofanato metílico + fipronil. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 7. 2011. Cáceres. **Anais...** Minas Gerais, 2011. Disponível em:

<http://siec.unemat.br/anais/conic/impressaoresumo_expandido.php?fxev=MA==&fxid=MTA5Nw==&fxcod=NTU4Nw==&fxdl=I>. Acesso em: 02 Fev. 2013.

SILVA, D. M. M. H.; BASTOS, C. N.; Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de *Piper* sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 2, p. 143-145, 2007.

SINGH, A. K.; SMARTT, J. The genome donors of the groundnut/peanut (*Arachis hypogaea* L.) revised. **Genetics Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 45, n. 2, p. 113-116, 1998.

SINGH, U.; SINGH, B. Tropical grain legumes as important human foods. **Economic Botany**, Bronx, v. 46, n. 3, p. 310-321, 1992.

SOUZA, M. A. A.; BRATTI, A.; STARK, M. L. M.; SOUZA, S. R. Atividade biológica de óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf.) avaliada através da inibição micelial de fungos fitopatogênicos. In: XXXVI CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 2003. **Anais...** Uberlândia, 2003.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005. 640p.

STALKER, H. T.; YOUNG, C. T.; JONES, T. M. A survey of fatty acids of peanut species. **Oléagineux**, Paris, v. 44, n. 8-9, p. 419-424, 1989.

SUASSUNA, T. M. F.; SANTOS, R. C.; GONDIM, T. M. S. **Cultivo do Amendoim: Importância econômica**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006 (Sistemas de Produção, 7). Disponível em:
<<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Amendoim/CultivodoAmendoim/index.html>>. Acesso em: 27 Nov. 2012.

SUASSUNA, T. M. F., SUASSUNA, N. D., ALBUQUERQUE, F. A. **Cultivo do Amendoim: Importância econômica**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006 (clima). Disponível em:
<<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Amendoim/CultivodoAmendoim/clima.html>>. Acesso em: 20 Dez. 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Plant defenses: surface protection and secondary metabolites. **Plant Physiology**, Sunderland: Sinauer Associates, 2^a ed. 1998. p. 350-353.

WOODROOF, J. G. Composition and nutritive value of peanuts. In: WOODROOF, J. G. In: **Peanut production, processing, products**. 3rd ed. Westport, Connecticut: Avi Publishing, 1983. cap. 8, p. 165-179.

WORTHINGTON, R. E.; HAMMONS, R. O. Variability in fatty acid composition among *Arachis* genotypes: a potential source of product improvement. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Champaign, v. 54, p. 105A-108A, 1977.

ZAMBOLIM, L.; JESUS JÚNIOR, W. C.; PEREIRA, O. L. **O essencial da Fitopatologia: Agentes causais**. Viçosa, Minas Gerais. 2012. v. 1, p. 228-229.

ZENI, T. L.; GRIGOLETTI JR., A.; AUER, C. G.; MAGALHÃES, W. L. E.; DUARTE, J. A. S.; BIZI, R. M. Uso de extrato aquoso e óleo de eucaliptos no controle de fungos fitopatogênicos *in vitro*. In: III EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA FLORESTAS, 2004, Colombo, PR, **Anais...** Colombo: Embrapa Florestas. 2004.

CAPÍTULO II

Potencial uso de óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas no controle da murcha de esclerócio em amendoim

Potencial uso de óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas no controle da murcha de esclerócio em amendoim

Yrlânia Lira Guerra^{*}; Roseane Cavalcanti dos Santos; Thiago Alves Santos de Oliveira; Delson Laranjeira; Péricles de Albuquerque Melo Filho

UFRPE - Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife-PE; **Autor para correspondência:** yrlalg@gmail.com; pericles@depa.ufrpe.br

Resumo Avaliou-se o efeito de sete óleos essenciais no controle da murcha de esclerócio em amendoim, baseando-se em ensaios *in vitro* e *in vivo*. Os ensaios foram conduzidos em laboratório e em casa de vegetação, envolvendo testes de dosagens, supressão da difusão do ácido oxálico, resposta genótipo-dependente e validação em condições naturais. Quatro isolados de *Sclerotium rolfsii* foram utilizados para este estudo, cedidos pela Coleção Maria Menezes e pelo Laboratório de Epidemiologia de doenças de plantas, da UFRPE. Dos sete óleos avaliados apenas o de palmarosa destacou-se entre os demais, com inibição do fungo a baixa concentração (300 ppm), reduzindo o crescimento micelial em 55%, no teste de supressão do ácido oxálico. No ensaio de controle da murcha de esclerócio, em que as sementes de amendoim foram tratadas com o óleo de palmarosa a 400 ppm via água de irrigação e as plantas submetidas a aplicações seriadas do óleo, verificou-se que a aplicação do óleo, de uma única vez, possibilitou redução do índice da doença em 55%. Houve, ainda,

um ganho na ordem de 57%, 54% e 40%, respectivamente, para o número de vagens, peso das vagens e índice de colheita, nas plantas tratadas com o óleo. Demonstrando o potencial uso desse óleo no controle da murcha de esclerócio.

Palavras-chave: Antifúngico, *Arachys hypogaea*, inibição, *Sclerotium rolfsii*

INTRODUÇÃO

O amendoim é uma oleaginosa que tem se expandido no Brasil devido ao crescimento nas demandas do produto para os mercados de óleo e de grãos. Apesar de ser cultivado, na sua maioria, na região Sudeste, os pequenos agricultores da região Nordeste têm adotado essa cultura devido ao mercado emergente e as facilidades de cultivo (Melo Filho e Santos 2010). A murcha de esclerócio apresenta-se como um dos sérios problemas fitossanitários devido ao custo do controle que, por ser oneroso, limita a produção e o uso da área, devido à expressividade dos esclerócios de um ano para outro (Punja 1985). A perspectiva de se identificar uma forma de controle natural, por meio de derivados vegetais traz vários benefícios aos agricultores, não apenas à cadeia de produção, mas também a saúde e ao ambiente.

O patógeno habitante do solo *Sclerotium rolfsii* Sacc. que afeta mais de 500 hospedeiros (Adandonon et al. 2006) distribuídos em mais de 100 famílias de plantas (Almeida et al. 2001; Bulluck III e Ristaino 2002; Serra e Silva 2005; Mafia et al. 2007). Os sintomas da murcha de esclerócio tem início com uma podridão no colo da planta, com lesões de coloração marrom-claro, que escurece com o desenvolvimento da doença causando necrose no tecido e posterior morte da planta (Bowen 2003). O controle torna-se difícil devido a falta de cultivares resistente e do elevado custo com defensivos químicos e aplicação. Além disso, as práticas de prevenção ou erradicação não conseguem eliminar completamente o

inóculo do solo (Ozgonen et al. 2010). Em lavouras comerciais, como a de feijão, alho, cebola e pimentão, dentre outras, os prejuízos podem chegar a 100% (Earnshaw et al. 2000; Serra e Silva 2005; Fery e Dukes 2011).

Considerando o nível de dificuldade para o controle de patógenos dessa natureza, são realizados esforços na busca de alternativas que minimizem os prejuízos dos agricultores e contribuam com a redução de danos ao meio ambiente. Resultados promissores foram verificados por meio de derivados vegetais, extratos ou óleos essenciais, com capacidade de controle contra vários tipos de fungos fitopatógenos, cujas principais ações são fungitoxicidade direta, inibição do crescimento micelial devido a retardamento ou a não germinação de esporos e indução de fitoalexinas (Bastos e Albuquerque 2004; Médice et al. 2007; Lima et al. 2008; Carnelossi et al. 2009, Abdolahi et al. 2010; Knaak e Fiuza 2010).

No que se refere aos óleos essenciais, apesar da maioria dos trabalhos serem *in vitro*, os efeitos fungitóxico tem sido reportados em fungos de semente, de solo e da parte aérea. Faria et al. (2006) verificaram que o óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. inibiu o crescimento micelial de *Penicillium chrysogenum* Thom; Os óleos essenciais de *Eremanthus* spp. (DC.) MacLeisch e *Lippia gracilis* Schauer demonstraram efeito sobre o crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* Kühn, na dose de 200 $\mu\text{L placa}^{-1}$ (Hillen, et al. 2012); O fungo *Didymella bryoniae* (Fuckel) Rehm obtido de plantas medicinais tem sua esporulação, germinação e crescimento micelial inibidos com os óleos de eucalipto citriodora (*Eucalyptus citriodora* Hook), capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), erva de São-João (*Ageratum conyzoides* L.) e mil folhas (*Achillea millefolium* L.) (Fiori et al. 2000); Os óleos de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) e cássia (*Cinnamomum cassia* L.) na dose de 300 ppm, inibe em 100% o crescimento micelial da *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler (Feng e Zheng 2007),

A quantidade de informações disponíveis na literatura é grande. Considerando-se, contudo, que há variabilidade natural entre isolados e nas concentrações dos ingredientes ativos das espécies vegetais, a validação de tais resultados em condições naturais é

imprescindível para que se possa recomendar, posteriormente, o uso do óleo essencial com maior confiabilidade.

A exploração das atividades biológicas dos compostos secundários no extrato bruto ou óleo essencial das espécies vegetais pode se constituir ao lado da indução da resistência, em uma potente forma de controle de doenças de plantas de forma real, econômica e segura (Schwan-Estrada et al. 2003). A base de aplicabilidade dessa modalidade de controle é amplo, mas as respostas efetivas giram em função da agressividade do patógeno.

Na zona semiárida do Nordeste brasileiro, vários agricultores tem adotado o controle de doenças em lavouras de ciclo curto por meio de misturas de extrato e óleos essenciais, de forma empírica (Melo Filho e Santos 2010).

Esse trabalho teve como objetivo prospectar e validar óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas para o controle de *S. rolfsii* em plantas de amendoim (*Arachys hypogaea* L.), por meio de ensaios *in vitro* e *in vivo*, com fins de promover posterior recomendação aos agricultores, em sistemas de manejos isolado ou integrado da doença.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos isolados de *Sclerotium rolfsii* e teste de patogenicidade

Quatro isolados de *S. rolfsii* foram cedidos da Coleção Maria Menezes (CMM) e da Coleção de fungos do Laboratório de Epidemiologia de Doenças de Plantas (LEDP), ambos da área da Fitossanidade, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Os dados de passaporte dos isolados utilizados encontram-se na Tabela 1.

Os fungos foram retirados da preservação em arroz autoclavado e repicados inicialmente em placa de Petri contendo meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar). Para a

determinação da taxa de crescimento, que consistiu do seguinte procedimento: um disco de micélio (5 mm diâmetro) com quatro dias foi transferido para o centro de placa de Petri com meio BDA e incubado em B.O.D (Biochemical Oxygen Demand) à temperatura 28°C, com 12 h de fotoperíodo. Esse procedimento foi feito para cada isolado, com cinco repetições e dispostos ao acaso na B.O.D. Sendo mensurado o crescimento micelial nas placas medindo-se o diâmetro da colônia em dois sentidos diametralmente opostos, a cada 24 h, até o patógeno atingir as bordas da placa. A taxa de crescimento micelial (TC) foi calculada pela fórmula adaptada de Lilly e Barnett (1951) $TC=(C_2 - C_1)/(T_2 - T_1)$, onde: TC=Taxa de crescimento micelial; C_2 =Crescimento atual da colônia (mm); C_1 =Crescimento da colônia no dia anterior; T_2 =Tempo atual após a inoculação (h); T_1 =Tempo da medição anterior (acumulado).

Tabela 1 Dados de passaporte dos isolados de *Sclerotium rolfsii* utilizados neste estudo

Isolado	Código	Coleção	Local	Hospedeiro	Nome científico
SR5	S.r. 28	LEDP	Cristalina- GO	Grão de bico	<i>Cicer arietinum</i>
SR14	CMM 2115	CMM	Teresina-PI	Feijão-caupi	<i>Vigna unguiculata</i>
SR15	CMM 2930	CMM	Potengi – CE	Feijão-caupi	<i>V. unguiculata</i>
SR16	CMM 3051	CMM	Alhandra - PB	Feijão-caupi	<i>V. unguiculata</i>

Para o teste de patogenicidade foi utilizada a metodologia adaptada de Bastos e Albuquerque (2004), plantas de amendoim (cultivar BR1) com 15 dias foram inoculadas com o patógeno, o qual foi cultivado previamente em meio BDA por nove dias. Foram colocados dois esclerócios por ferimento no colo da planta, ocasionado com o auxílio de um bisturi. Após a inoculação, o ferimento foi coberto com algodão umedecido com ADE (água destilada

esterilizada) e envolvido com Parafilm[®]. O tratamento controle consistiu de plantas com ferimentos sem adição dos esclerócios. Após a inoculação, as plantas foram submetidas à câmara úmida por 48 h, seguindo metodologia adaptada de Falcão et al. (2005).

A avaliação da severidade foi realizada com base em escala de notas adaptada de Fery e Dukes (2002), onde: 1= plantas sem sintomas; 2= plantas com escurecimento do colo; 3= plantas com estrangulamento do colo, porém ainda vivas; 4= plantas com estrangulamento e crescimento fúngico no colo, porém ainda vivas; 5= plantas mortas. Para estimar o índice da severidade da doença (DSI), as notas foram transformadas adotando-se a fórmula: $DSI(\%) = \frac{\sum (\text{pontuação de todas as plantas})}{[5 \times (\text{número total de plantas})]} \times 100$ (Paula Júnior et al. 2011). O delineamento adotado foi inteiramente casualizado, com cinco repetições.

Ao final dos procedimentos, as plantas foram coletadas e realizado reisolamento do patógeno em meio de BDA.

Inibição da formação de esclerócios de *Sclerotium rolfsii* por óleos essenciais

No presente estudo, foram utilizados os seguintes óleos essenciais, todos adquiridos em estabelecimentos comerciais da marca Bioessência (Indústria Bioessência Produtos Naturais Ltda., São Paulo, Brasil): Manjerição (*Ocimum basilico* L.), Junípero (*Juniperus communis* L.), Palmarosa (*Cymbopogon Martinii* (Roxb.) Stapf var. *motia* Burk), Eucalipto estaigeriana (*Eucalyptus staigeriana* F. Muell), Cedro atlas (*Cedrus atlântica* Manetti), Gengibre (*Zingiber officinale* L.) e Copaíba (*Copaifera ofcinalis* L.). Um bioensaio prévio foi conduzido visando testar a capacidade de cada óleo para inibir a formação de esclerócios, tomando-se como referencial a dosagem de 1000 ppm. Posteriormente, os óleos selecionados foram novamente testados, sendo que desta vez, nas concentrações de 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 ppm. Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Fungos de Solo, da área

de Fitossanidade, na UFRPE. Cada óleo foi adicionado ao meio BDA fundente ($\pm 40^{\circ}\text{C}$), contendo espalhante adesivo (Tween[®] 20) na mesma proporção do óleo.

Para cada tratamento, um disco do meio BDA contendo micélio do isolado (SR5) que apresentou maior taxa de crescimento e o mais agressivo no teste de patogenicidade foi depositado no centro da placa de Petri (\varnothing 9 cm), nas dimensões e procedimentos descritos no item anterior. As placas foram acondicionadas em B.O.D. a 28°C e fotoperíodo de 12 h. Ao final de 15 dias, foi realizada a contagem do número de esclerócios por placa. O delineamento adotado foi inteiramente casualizado com sete repetições.

Inibição da formação de esclerócios com diferentes isolados de *Sclerotium rolfsii* por óleos essenciais

Este teste foi conduzido com todos os isolados descritos na Tabela 1 objetivando atestar os resultados obtidos no ensaio anterior, na menor concentração do óleo selecionado, com os quatro isolados de *S. rolfsii*. O procedimento metodológico foi o mesmo descrito anteriormente. O delineamento adotado foi inteiramente casualizado com cinco repetições.

Supressão da difusão do ácido oxálico

Neste experimento foi utilizado o isolado de *S. rolfsii* mais agressivo (SR5) com base no teste de patogenicidade, descrito anteriormente. Ao meio de cultura 523 (Kado and Heskett 1970), acrescido de azul de bromotimol a 0,005% (adaptado de Steadman et al. 1994), foi adicionado o óleo de melhor resposta na concentração selecionada no ensaio anterior. Um disco (\varnothing 5 mm) de micélio de cada isolado, com quatro dias de cultivo no meio de BDA, foi depositado no centro da placa de Petri e posteriormente acondicionado em B.O.D, seguindo procedimentos descritos nos ensaios anteriores.

De cada placa foi avaliada a capacidade do óleo em alcalinizar o meio, restringindo a difusão do ácido oxálico produzido pelo patógeno, evidenciado pela formação de um halo de inibição de coloração amarela e redução do tamanho da colônia. O delineamento foi inteiramente casualizado com cinco repetições, sendo cada repetição constituída por uma placa de Petri.

Estabelecimento do patógeno no substrato e de patogenicidade a genótipos de amendoim em casa de vegetação

Para o estabelecimento do patógeno, os quatro isolados de *S. rolfsii* (Tabela 1) foram previamente cultivados em arroz autoclavado e adicionados, cada um, ao substrato comercial Baseplant[®], na concentração de 72 mg Kg⁻¹ de substrato (Barbosa et al. 2010). Considerando-se que as quantidades basais de fertilizantes do Baseplant[®] poderia afetar o desempenho das plantas, outro tratamento foi testado, que consistiu em adicionar a cada quilo de substrato 40g de P₂O₅ + 15g KCl + 200g de húmus, atendendo recomendação para a cultura, descrita em Bolonhesi et al. (2005).

O substrato foi infestado depositando 72mg do arroz colonizado pelo fungo na cova de cada vaso (1 Kg), a qual ficou aberta por 48 h. A seguir, foram colocadas duas sementes, previamente desinfestadas, de amendoim por cova. As regas foram realizadas diariamente, mantendo-se a capacidade de campo. Para verificar se a resposta à infecção foi genótipo-dependente, foram utilizadas duas cultivares, sendo uma representada pelo tipo botânico Spanish (Senegal 55437) e outra pelo tipo Valencia (BR1). O delineamento foi inteiramente casualizado cujos tratamentos foram com e sem adubação, composto por cinco repetições. As plantas foram monitoradas diariamente por 15 dias para observação do estabelecimento do patógeno no substrato e desenvolvimento dos sintomas da doença nas plantas. Ao final do ensaio, avaliou-se o índice da doença, seguindo metodologia acima descrita.

Validação do óleo contra *Sclerotium rolfsii* em casa de vegetação

Sementes da cultivar BR1 foram cultivadas em vasos (5 Kg), contendo substrato Baseplant[®], adicionado, de 40g de P₂O₅ + 15g KCl + 200g de húmus/ Kg de substrato. O substrato foi previamente infestado seguindo os mesmos procedimentos descritos no item anterior. O ensaio constou do tratamento de sementes de amendoim (BR1) com o óleo essencial e concentração selecionada nos ensaios anteriores. O óleo foi avaliado em dose única e em aplicações seriadas, sendo que, nestes, aplicou-se 400 µl mL⁻¹ do óleo na água de irrigação, em todos os tratamentos, assim representados: CN- controle negativo (semente tratada apenas com água); STO- sementes tratadas com óleo essencial em um única aplicação; STF- semente tratada com fungicida comercial Vitavax-Thiram; STO-7- sementes tratadas com óleo + aplicações semanais da emulsão; STO-10- sementes tratadas com óleo + aplicações decenais da emulsão; STO-15- sementes tratadas com óleo + aplicações quinzenais da emulsão; STO-30- sementes tratadas com óleo + aplicações mensais da emulsão.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com sete tratamentos e cinco repetições. Ao final do ciclo da cultura foi estimado o índice da severidade da doença e avaliadas as seguintes variáveis agronômicas: peso das vagens, número de vagens por planta e índice de colheita, que foi estimado pela relação: (biomassa seca das vagens/biomassa seca da planta)x100.

Análise estatística

Após coleta dos dados, procedeu-se a análise de variância pelo teste F com auxílio do programa Statistix[®] para Windows (versão 9.0). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para análise estatística dos dados o ensaio em casa de

vegetação, os valores de severidade da doença foram transformados adotando-se o índice da severidade da doença (DSI).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Obtenção dos isolados de *Sclerotium rolfsii* e teste de patogenicidade

Todos os isolados apresentaram crescimento normal em meio de BDA, entre eles, o SR5 apresentou maior taxa de crescimento com média de 1,12cm/dia (Fig. 1), alcançando toda placa em apenas quatro dias, sendo portanto, o isolado escolhido para os demais ensaios.

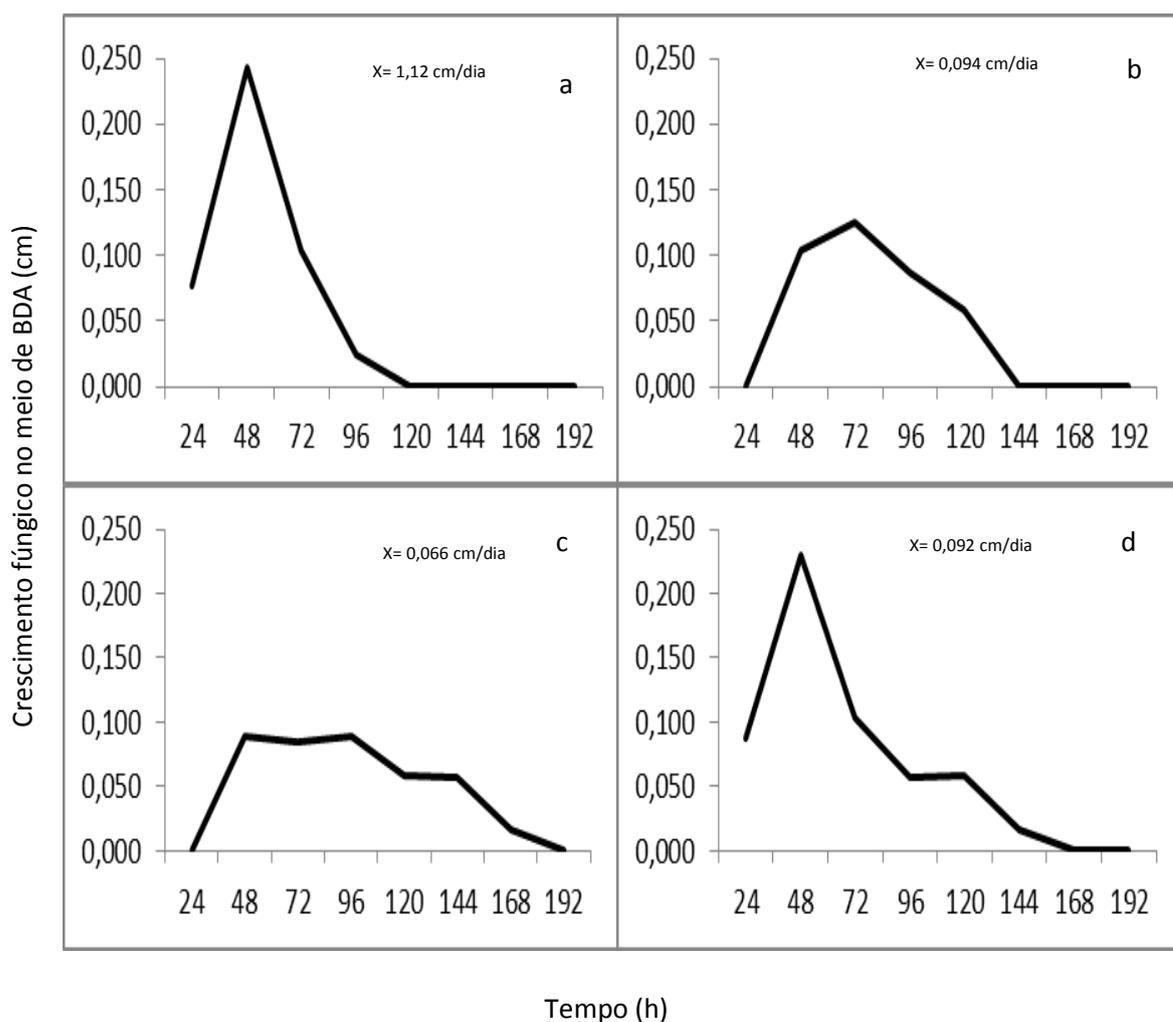


Fig. 1 Taxa de crescimento micelial dos isolados de *Sclerotium rolfsii* em meio de cultura BDA; a- Isolado SR5, b- Isolado SR14, c- Isolado SR15, d- Isolado SR16.

Quanto à patogenicidade, os primeiros sintomas foram observados 48 h após a inoculação, ao se retirar a câmara úmida, dos isolados SR5 e SR14, verificando-se necrose da região lesionada da planta e presença de micélio branco na região inoculada. Os sintomas evoluíram para estrangulamento na região afetada e murcha da planta. Baseando-se na escala de Fery e Dukes (2002), o isolado SR5 demonstrou ser 80% mais agressivo que os demais e com a maior taxa de crescimento (Tabela 2). Os demais isolados não diferiram estatisticamente entre si. O isolado SP5 foi reisolado das plantas sintomáticas e seu agente causal foi identificado e confirmado, completando os postulados de Koch.

Tabela 2 Índice da severidade da doença (DSI) e taxa de crescimento (TC) dos isolados em plantas de amendoim aos 15 dias de inoculação

Isolado	DSI (%)	TC (cm/dia)
SR5	80,0a	1,12a
SR14	48,0b	0,94b
SR15	32,0b	0,66b
SR16	48,0b	0,92b
CV (%)	12,51	8,34

Dados originais transformados em $\sqrt{(x + 0.5)}$. Letras iguais dentro da mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($P \leq 0.05$). CV- Coeficiente de variação.

Inibição de formação de esclerócios do *Sclerotium rolfsii* por óleos essenciais

Entre os óleos essenciais analisados, os resultados mais expressivos foram obtidos com o de Palmarosa que inibiu em 100% a formação de esclerócio e o desenvolvimento micelial do patógeno, tanto no bioensaio a 1000 ppm como nos experimentos subsequentes, utilizando menores dosagens (síntese dos resultados na Tabela 3). Esse resultado é

interessante uma vez que os esclerócios são estruturas de resistência a adversidades ambientais e a redução de sua propagação por meio de um óleo a baixa concentração pode representar uma alternativa para o controle do fungo de forma menos agressiva ao ambiente.

Tabela 3 Número de esclerócios de *Sclerotium rolfsii* formados na presença do óleo essencial de Palmarosa

Óleo essencial	Dosagem (ppm)								
	0	300	400	500	600	700	800	900	1000
Controle	113,5a	-	-	-	-	-	-	-	-
Palmarosa	-	0b							
CV (%)	2,82								

Dados originais transformados em $\sqrt{(x + 0.5)}$ para efeito de análise estatística. Letras iguais dentro da mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0.05$). CV- coeficiente de variação.

A ação antimicrobiana do óleo de palmarosa é relatada em vegetais com ação sobre fungos (Misra et al. 1988; Singatwadia and Katewa, 2001; Stangarlin et al. 2011; Wilson et al. 1997) e leveduras (Prashar et al. 2003). O efeito fungitóxico desse óleo é relatado sobre os fungos *Aspergillus flavus* Micheli, *A. fumigatus* Fresen e *A. parasiticus* Speare, quando utilizados nas concentrações de 3000, 2000 e 900 ppm, respectivamente, com inibição do desenvolvimento dos fungos em 100%, devendo-se sua atividade ao geraniol, o componente majoritário do óleo (Misra et al. 1988). O efeito inibitório em levedura, *Saccharomyces cerevisiae* Meyen, a qual o óleo de palmarosa reduziu o crescimento em 100%, na dose de 0,1%. Segundo os autores, o geraniol teve ação direta na membrana celular da levedura (Prashar et al. 2003). Em *Botrytis cinerea* Persoon ex Fries o óleo de palmarosa reduziu germinação do esporo na dose de 0,78% após 40h da aplicação (Wilson et al. 1997). Este mesmo óleo também teve ação na inibição do crescimento micelial, na germinação de esporos e na formação de apressórios de *Colletotrichum* sp. quando utilizado na dose de 10%.

(Stangarlin et al. 2011). Talvez este seja o primeiro relato da ação do óleo de palmarosa contra *S. rolfsii*.

Inibição do crescimento micelial com diferentes isolados de *Sclerotium rolfsii*

Todos os quatro isolados de *S. rolfsii* obtidos de estados distintos, não apresentaram crescimento micelial na dose de 400ppm do óleo de Palmarosa, comprovando o efeito de inibição deste óleo sobre o patógeno.

Supressão da difusão do ácido oxálico

O óleo de Palmarosa foi selecionado para esse teste em função dos resultados obtido nos ensaios de inibição. Apesar de não ter sido verificado presença de esclerócios a 300 ppm, selecionou-se a concentração de 400 ppm, como margem de segurança. Verificou-se que o óleo reduziu o crescimento micelial em 55% e não permitiu a formação do esclerócio (Fig. 2) (Tabela 4). Esse resultado reforça o que foi observado no ensaio anterior, da ação antifúngica deste óleo sobre o *S. rolfsii*. O ácido oxálico é naturalmente produzido pelo patógeno durante o processo de parasitismo na planta hospedeira (Deacon 1997), podendo ser também produzido na fase saprofítica (Kucey et al. 1989). Esse componente se combina com o cálcio, presente no tecido do hospedeiro, favorecendo a ação de enzimas pectinolíticas, responsáveis pela degradação dos tecidos vegetais (Deacon 1997). Segundo Almeida et al. (2001), essa produção de ácido oxálico pode ser uma das principais causas da ampla gama de hospedeiros do *S. rolfsii*, associada ao rápido desenvolvimento do fungo. Testes *in vitro* demonstram que o acúmulo progressivo do ácido oxálico pelo fungo leva à diminuição do pH no meio de cultura (Maxwell e Lumsden 1970). Isso favorece a formação de esclerócios no meio de cultura (Rollins e Dickman 2001).

Tabela 4 Inibição da difusão do ácido oxálico de *Sclerotium rolfii* devido à presença do óleo de Palmarosa

Tratamento	Crescimento micelial (mm)	Halo de inibição (cm)	Redução (%)
Palmarosa	26,26 ^a	35,78a	70,5
Controle	88,75b	1,25b	1,4
CV (%)	4,15	2,64	

Dados originais transformados em $\sqrt{(x + 0.5)}$ para efeito de análise estatística. Letras iguais dentro da mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). CV- coeficiente de variação.

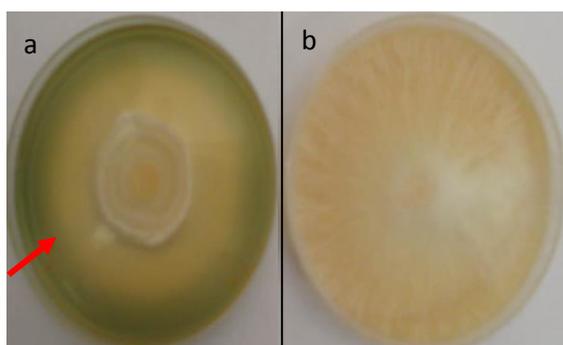


Fig. 2 Formação do halo de inibição de difusão do ácido oxálico liberado pelo *Sclerotium rolfii*, com adição do óleo de palmarosa no meio de cultura BDA; a- Halo de inibição com o óleo de Palmarosa a 400ppm; b- Testemunha. (Foto de Guerra, Y. L.).

Estabelecimento do patógeno no substrato e patogenicidade em genótipos de amendoim

Nesse teste verificou-se o crescimento do fungo no substrato Baseplant[®] após 48 h de inoculação, em 99% dos tratamentos. Oito dias após a germinação, as plântulas já apresentavam formação de esclerócios no colo, com lesões escuras e crescimento cotonoso ao redor dessas lesões.

As médias referentes ao índice de doença em cada cultivar encontram-se na Tabela 5. Verificou-se diferença estatística significativa entre todos os tratamentos, indicando que há

variação na patogenicidade dos isolados com maior expressão na agressividade quando os mesmos foram cultivados na presença do substrato sem acréscimo de fertilizantes. A cultivar do tipo Valência (BR1), foi mais suscetível que a do tipo Spanish (Senegal 55437). Até o presente momento não há relatos de cultivar de amendoim com resistência a *S. rolfsii*, sugere-se que a menor vulnerabilidade da Senegal 55437 esteja associada a sua elevada precocidade que por florar e finalizar o ciclo mais rápido compete menos na perda de metabólitos, quando se depara na situação de estresse biótico ou abiótico (Pereira et al. 2011).

Tabela 5 Índice da severidade da doença em duas cultivares de amendoim inoculadas com diferentes isolados de *Sclerotium rolfsii*

Tratamento	BR1		*RDSI (%)	Senegal 55437		RDSI (%)
	S	S+F		S	S+F	
Controle	0dA	0eA	-	0eA	0cA	-
SR5	100aA	76aB	24	24aA	8aB	67
SR14	76bA	36bB	53	14bA	4bB	71
SR15	72bA	24cB	67	4cdA	0,5cB	87
SR16	20cA	26cA	-	8cA	0,5cB	94
CV%	14,38					

Substrato sem suplementação de fertilizantes (S) e com suplementação de fertilizantes (S+F). *RDSI - redução do índice da severidade da doença das cultivares comparada com e sem adição de fertilizantes no substrato. Letras minúscula compara entre isolados e maiúscula entre tratamentos: Médias com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Dados originais transformados em $\sqrt{(x + 0.5)}$ para efeito de análise estatística. CV- coeficiente de variação.

Entre os isolados avaliados, SR5 mostrou maior severidade, promovendo um maior índice da severidade da doença (DSI) quando cultivado apenas em substrato. Em todos os demais isolados verificou essa tendência, o que reforça a indicação de fertilização adequada

das lavouras como forma de minimizar os prejuízos causados por fitopatógenos. Segundo a literatura, macrofertilizantes, em especial o potássio, contribuem expressivamente para reduzir a vulnerabilidade de plantas contra fungos de vagens, hastes e folhagens (Huber e Arny 1985; Mascarenhas et al. 2003; Basseto et al. 2007). Há também relatos de que o fornecimento equilibrado de potássio reduz a incidência de doenças nas plantas devido a maior resistência à penetração em função da maior espessura e rigidez da parede celular, esse processo limita o desenvolvimento de alguns patógenos (Basseto et al. 2007). Tal resultado corrobora com Huber e Arny 1985; Mascarenhas et al. 2003; Basseto et al. 2007, os quais relatam que para o *S. rolfsii*, a adubação adequada é uma das medidas de controle porque reduz a incidência do patógeno nas plantas.

Validação de óleo essencial no controle de *Sclerotium rolfsii* em amendoim

O ensaio de validação foi realizado em casa de vegetação, no período de abril a julho de 2012. As médias da umidade relativa do ar e temperatura do solo durante o período do ensaio, variaram entre 77% e 96% e 39°C e 45°C, respectivamente. Nessas faixas de temperatura o *S. rolfsii* mantém seus esclerócios viáveis para provocar a doença (Ghini et al. 1992).

As médias referentes ao DSI e as variáveis agrônômicas encontram-se na Tabela 6. Todos os tratamentos com o óleo de palmarosa reduziram significativamente a murcha de esclerócio. Entretanto não foi verificada diferença estatística entre os tratamentos com óleo para DSI, indicando que, para controle do isolado desse estudo, as sementes podem ser tratadas com este óleo a 400 ppm, de uma única vez, minimizando custos adicionais de aplicação. A média do DSI situou-se em 21%, correspondendo a uma redução em 55% com relação ao controle.

Conforme pode ser verificado no ensaio de seleção de genótipos (Tabela 5), o DSI da BR1 situou-se em 76% nos ensaios com suplementação de fertilizantes. A diferença encontrada no DSI do ensaio de validação (Tabela 6) na faixa de 47% deve-se a maior disponibilidade de nutrientes que foi oferecida às plantas, condicionando-as a um melhor desenvolvimento durante sua fenologia.

Tabela 6 Médias do índice da severidade da doença (DSI) e de três variáveis agrônômicas em plantas de amendoim (BR1) tratadas previamente com óleo de palmarosa a 400 ppm no controle da murcha de esclerócio

Tratamento	Índice de	Vagens maduras/Plantas		Índice de
	doença (%)	Número	Peso (g)	Colheita (%)
Controle negativo	47,17a	7b	6,7 b	26,53b
STF	13,40d	10a	9,6a	37,93a
STO	21,01b	11a	10,5a	36,91a
STO-7	20,73b	10a	9,5a	35,06a
STO-10	20,80b	10a	9,6a	38,20a
STO-15	21,50b	10a	9,6a	36,84a
STO-30	22,22b	12a	11,4a	37,75a
CV %	9,45	12,61	10,78	17,32

CN-controle negativo (semente tratada apenas com água destilada esterilizada); STO-sementes tratadas com óleo essencial em um única aplicação; STF- semente tratada com fungicida comercial (carboxina + tiram, 250mL100kg⁻¹ semente); STO-7-sementes tratadas com óleo + aplicações semanais da mistura; STO-10-sementes tratadas com óleo + aplicações decenais da mistura; STO-15-sementes tratadas com óleo + aplicações quinzenais da mistura; STO-30-sementes tratadas com óleo + aplicações mensais da mistura. Médias seguidas de mesma letra dentro da mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. CV-coeficiente de variação.

Com relação aos dados agrônômicos, verificou-se que, com exceção do controle, os demais tratamentos não diferiram entre si, indicando que, tanto o tratamento com fungicida quanto com óleo de palmarosa permitiram um ganho na ordem de 57%, 54% e 40%,

respectivamente, para o número de vagens, peso das vagens e índice de colheita, em comparação com o tratamento controle.

Vários trabalhos tem evidenciado o potencial de óleos essenciais para controle de fitopatógenos, principalmente em ensaios *in vitro*. Neste trabalho, as evidências comprovaram tanto *in vitro* como *in vivo* o potencial do óleo essencial de palmarosa no controle de *S. rolfsii*, para esse patossistema. Os ensaios aqui conduzidos abrangeram questões enzimáticas, no teste de supressão do ác. oxálico, e agrônômicas de modo a confirmar a efetividade do óleo contra o fitopatógeno estudado. Considerando-se a complexidade das formas de controle para *S. rolfsii* em campo, as informações contidas neste trabalho oferecem oportunidade de controle da doença de maneira mais agroecológica sendo, portanto, uma alternativa para agricultores que adotam um manejo de lavoura menos agressivo ao meio ambiente.

REFERÊNCIAS

- Abdolahi, A., Hassani, A., Ghosta, Y., Javadi, T., & Meshkatalasadat, M. H. (2010). Essential oils as control agents of postharvest *Alternaria* and *Penicillium* rots on tomato fruits. *Journal of Food Safety*, 30, 341-352.
- Adandonon, A., Aveling, T. A. S., Labuschagne, N., & Tamo, M. (2006). Biocontrol agents in combination with *Moringa oleifera* extract for integrated control of *Sclerotium*-caused cowpea damping-off and stem rot. *European Journal of Plant Pathology*, 115, 409-418.
- Almeida, A. M. R., Abdelnoor, R. V., Calvo, E. S., Tessnman, D., & Yorinori, J. T. (2001). Genotypic diversity among brazilian isolates of *Sclerotium rolfsii*. *Journal of Phytopathology*, 149, 493-502.
- Barbosa, R. N. T., Halfeld-Vieira, B. A., Nechet, K. L., & Souza, G. R. (2010). Método para inoculação de *Sclerotium rolfsii* em tomateiro. *Revista Agro@ambiente*, 4, 49-52.

- Basseto, M. A., Ceresini, P. C., & Valerio Filho, W. V. (2007). Severidade da mela da soja causada por *Rhizoctonia solani* AG-1 IA em função de doses de potássio. *Summa phytopathologica*, 33, 56-62.
- Bastos, C. N., & Albuquerque, S. B. (2004). Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. *Fitopatologia Brasileira*, 29 555-557.
- Bolonhesi, D. , Godoy, I. J. & Santos, R. C. (2005). Manejo cultural do amendoim. (In Santos, R. C. (Eds.), O agronegócio do Amendoim no Brasil (pp. 204-215). Campina Grande: Paraíba)
- Bowen, K. L. (2003). Development of Stem Rot (Caused by *Sclerotium rolfsii*) in Peanut in Alabama. *Peanut Science*, 30, 120-128.
- Bulluck III, L. R., & Ristaino, J. B. (2002). Effect of synthetic and organic soil fertility amendments on Southern Blight, Soil Microbial Communities, and yield of processing tomatoes. *The American Phytopathological Society*, 92,181-189.
- Carnelossi, P. R., Schwan-Estrada, K. R. F., Cruz, M. E. S., Itako, A. T., & Mesquini, R. M. (2009). Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, 11, 399-406.
- Deacon, J. W. (3. ed.) (1997). *Modern mycology*. (Cambridge: Blackwell Science).
- Earnshaw, D. M., Mcdonald, M. R., & Boland, G. J. (2000). Interactions among isolates and mycelial compatibility groups of *Sclerotium cepivorum* and cultivars of onion (*Allium cepa*). *Canadian Journal of Plant Pathology*, 22, 387-391.
- Falcão, J. V., Orili, F. P., Ávila, Z. R., & Mello, S. C. M. (2005). Estabelecimento de metodologia para contaminação de solo com propágulos dos fungos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*, e expressão de doença em soja, (Comunicado técnico 135).

- Faria, T. J., Ferreira, R. S., Yassumoto, L., Souza, J. R. P., Ishikawa, N. K., & Barbosa, A. M. (2006). Antifungal of essential oil isolated from *Ocimum gratissimum* L. (eugenol chemotype) against phytopathogenic fungi. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, *49*, 867-871.
- Feng, W., & Zheng, X. (2007). Essential oils to control *Alternaria alternata* *in vitro* and *in vivo*. *Food Control*, *18*, 1126-1130.
- Fery, R., & Dukes Sr, P. D. (2002). Southern blight (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) of cowpea: yield-loss estimates and sources of resistance. *Crop Protection*, *21*, 403-408.
- Fery, R. L. & Dukes, P. D. (2011). Southern Blight (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) of cowpea: Genetic characterization of two sources of resistance. *International Journal of Agronomy*, *2011*, 6p.
- Fiori, A. C. G., Schwan-Estrada, K. R. F., Stangarlin, J. R., Vida, J. B., Scapim, C. A., Cruz, M. E. S., & Pascholati, S. F. (2000). Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. *Journal Phytopathology*, *148*, 483-487.
- Ghini, R., Bettioli, W., Armond, G., Braga, C. A. S., & Inomoto, M. M. (1992). Desinfestação de substratos com a utilização de coletor solar. *Bragantia Campinas*, *51*, 85-93.
- Hillen, T., Schwan-Estrada, K. R. F., Mesquini, R. M., Cruz, M. E. S., Stangarlin, J. R., & Nozaki, M. (2012). Atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle de alguns fitopatógenos fúngicos *in vitro* e no tratamento de sementes. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, *14*, 439-445.
- Huber, D. M., & Arny, D. C. (1985). Interactions of potassium with plant disease. (In: Munson, R. D. (Eds.), *Potassium in agriculture* (pp. 467-488), Madison.).
- Kado, C. J., & Heskett, M. G. (1970). Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology*, *60*, 969-976.

- Knaak, N., & Fiuza, L. M. (2010). Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. *Neotropical Biology and Conservation*, 5, 120-132.
- Kucey, R. M. N., Janzen, H. H., & Legget, M. E. (1989). Microbially mediated increases in plant-available phosphorus. *Advances in Agronomy*, 42, 199-228.
- Lilly, V. G., & Barnett, H. L. (1951). *Growth. Physiology of the fungi*. (New York: Mcgraw-Hill).
- Lima, W. G., Santos, R. C., Câmara, C. A. G., Câmara, M. P. S., & Melo Filho, P. A. (2008). Citronella oil inhibits cotton ramulosis in controlled conditions. *Pest Technology*, 2, 24-27.
- Mafia, R. G., Alfenas, A. C., & Rezende Júnior, M. F. R. (2007). Tombamento de mudas de espécies florestais causado por *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Revista Árvore*, 31, 629-634.
- Mascarenhas, H. A. A., Tanaka, R. T., Wutke, E. B., Braga, N. R., & Miranda, M. A. C. (2003). Potássio para soja. *O Agrônomo*, 55, 20-21.
- Maxwell, D. P. & Lumsden, R. D. (1970). Oxalic acid production by *Sclerotinia sclerotiorum* in infected bean and in culture. *Phytopathology*, 60, 1395-1398.
- Médice, R., Alves, E., Assis, R. T., Magno Júnior, R. G., & Lopes, E. A. G. L. (2007). Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. *Ciência e Agrotecnologia*, 31, 83-90.
- Melo Filho, P. A., & Santos, R. C. A. (2010). A cultura do amendoim no Nordeste: situação atual e perspectivas. *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônoma*, 7, 192-208.
- Misra, N., Batra, S., & Mishra, D. (1988) Antifungal efficacy of essential oil of *Cymbopogon martinii* (lemon grass) against *Aspergillus*. *International Journal of Crude Drug Research*, 26, 73-76.

- Ozgonen, H., Akgul, D. S., & Erkilic, A. (2010). The effects of arbuscular mycorrhizal fungi on yield and stem rot caused by *Sclerotium rolfsii* Sacc. in peanut. *African Journal of Agricultural Research*, 5, 128-132.
- Paula Júnior, T. J. Teixeira, H., Vieira, R.F., Lehner, M. S., Lima, R. C. & Queiroz, T. F. N. (2011). Susceptibility of leguminous green manure species to *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, 37, 218-220.
- Pereira, R. B., Lucas, G. C., Perina, F. J., Resende, M. L. V., & Alves, E. (2011). Potential of essential oils for the control of brown eye spot in coffee plants. *Ciência e Agrotecnologia*, 35, 115-123.
- Prashar, A., Hili, P., Veness, R. G., & Evans, C. S. (2003). Antimicrobial action of Palmarosa oil (*Cymbopogon martinii*) on *Saccharomyces cerevisiae*. *Phytochemistry*, 63, 569-575.
- Punja, Z. K. (1985). The biology, ecology and control of *Sclerotium rolfsii*. *Annual Review of Phytopathology*, 23, 97-127.
- Rollins, J. A., & Dickman, M. B. (2001). pH signaling in *Sclerotinia sclerotiorum*; identification of a pacC/RIM1 homolog. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 75-81.
- 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.
- Serra, I. M. R. S. & Silva, G. S. (2005). Caracterização biológica e fisiológica de isolados de *Sclerotium rolfsii* obtidos de pimentão no estado do Maranhão. *Fitopatologia Brasileira*, 30, 1, 61-66.
- Singatwadia, A. & Katewa, S. S. (2001). In vitro studies on antifungal activity of essential oil of *Cymbopogon martini* and *Cymbopogon citratus*. *Indian Perfum*, 45, 53-55.
- Stangarlin, J. R., Kuhn, O. J., Assi, L., & Schwan-Estrada K. R. F. (2011). Control of plant diseases using extracts from medicinal plants and fungi. *Science against microbial*

pathogens: communicating current research and technological advances, 1, 1033-1042.

- Steadman, J. R., Marcinkowska, J., & Rutledge, S. (1994). A semi-selective medium for isolation of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 16, 68-70.
- Wilson, C. L., Solar, J. M., El Ghaouth, A., & Wisniewski, M. E. (1997). Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant Disease*, 81, 204-210.

CONCLUSÕES GERAIS

- Óleo de palmarosa tem potencial para o controle da murcha-de-esclerócio em amendoim;
- Com relação a murcha-de-esclerócio, nos testes *in vivo*, a cultivar BR1 se comportou como mais susceptível que Senegal;
- O tratamento da semente do amendoim (BR1) com o óleo de palmarosa em dose única é suficiente para se obter a redução da murcha de esclerócio e mesma produção de vagens e sementes nas condições testadas.