

ÓLEOS ESSENCIAIS COMO ALTERNATIVA PARA O CONTROLE DO *Colletotrichum coffeanum* NO CAFEEIRO

Jéssica Pereira de Matos¹, Manassés dos Santos Silva¹, Fernanda Castro Pires dos Santos¹,
Armínio Santos² e Danila Souza Oliveira Coqueiro¹

¹Universidade Federal da Bahia (UFBA), Instituto Multidisciplinar em Saúde, Campus Anísio Teixeira, Rua Rio de Contas, 58, Quadra 17, Lote 58, 45029-094, Candeias, Bahia, Brasil. ²Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Campus de Vitória da Conquista, Estrada do Bem Querer, km 4, B. Universitário, 45031-900, Vitória da Conquista, Bahia, Brasil.
jessicamatos.biotech@gmail.com, manasses.tec@hotmail.com, fe.castro_@hotmail.com, arminioo@gmail.com, danilasoc@yahoo.com.br

Na cultura do café o gênero *Colletotrichum*, causador de doenças conhecidas como antracnose, acarreta perdas significativas em sua produção. Este estudo avaliou o efeito de óleos essenciais sobre a germinação de conídios e o crescimento micelial de *Colletotrichum coffeanum* e na redução da severidade da antracnose em folhas de café. Folhas destacadas de café foram tratadas com óleos essenciais de citronela, capim-limão e hortelã nas concentrações de 0; 5; 7,5; 10 e 15 $\mu\text{L mL}^{-1}$ e após 24h avaliadas quanto a fitotoxidez para proceder com a inoculação. A germinação de conídios foi conduzida com a deposição de 100 μL de cada tratamento sobre 100 μL da suspensão de conídios (10^4 conídios mL^{-1}). Para o crescimento micelial, os óleos essenciais foram incorporados ao meio BDA e a mistura vertida em placas de Petri. Após solidificação, um disco de micélio foi repicado no centro da placa. A maior concentração dos óleos causaram fitotoxidez nas folhas, sendo que todas as concentrações do capim-limão foram fitotóxicas 24h após os tratamentos. Hortelã e citronela nas concentrações 5; 7,5 e 10 $\mu\text{L mL}^{-1}$ não apresentaram fitotoxidez ou apresentaram fitotoxidez reduzida. Até 15 dias após a inoculação não foram observados sintomas da antracnose nas folhas. Hortelã e a citronela, nas três concentrações utilizadas, reduziram significativamente a germinação de conídios e o crescimento micelial. Dessa forma, acredita-se que as concentrações utilizadas contribuíram para fitotoxidez observada. Entretanto, este estudo serve como ponto de partida para que outros sejam conduzidos com estes óleos, utilizando concentrações menores e também com testes envolvendo plantas.

Palavras-chave: Controle alternativo, eliciador, fitotoxidez, fungistático.

Essential oils as alternative for the control of *Colletotrichum coffeanum* at the coffee tree. In the coffee culture the *Colletotrichum* genus which cause diseases known as anthracnose, causes significant lost in coffee production. The study evaluated the effect of essential oils on the conidial germination and mycelium growth of the *Colletotrichum coffeanum* and in the reduction of severity of anthracnose in coffee leaves. Coffee detached leaves were collected and treated with citronella, lemongrass and mint essential oils at concentrations 0; 5; 7,5; 10 and 15 $\mu\text{L mL}^{-1}$, and after 24h were evaluated for phytotoxicity to proceed with the inoculation. Conidial germination was conducted with the deposition of 100 μL of each treatment on 100 μL of the conidial suspension (10^4 conidial mL^{-1}). For mycelium growth essential oils were added to BDA media and the mixture poured into Petri dishes. After solidification, a mycelial disc was peaked to the center of the plate. The highest concentration of oils caused phytotoxicity in the leaves, and all lemongrass concentrations were phytotoxic 24 hours after the treatments. Mint and citronella in concentrations 5; 7.5 and 10 $\mu\text{L mL}^{-1}$ showed no phytotoxicity or had reduced phytotoxicity. Symptoms of anthracnose were not observed 15 days after inoculation on the leaves. Mint and citronella, the three concentrations used, significantly reduced the conidial germination and mycelial growth. Thus, it is believed that the concentrations used contributed to phytotoxicity observed. However, this study is a starting point for others to be conducted with these oils using lower concentrations and with assays in plants.

Key words: Alternative control, elicitor, phytotoxicity, fungistatic.

Introdução

O café é um dos produtos agrícolas mais importantes para o Brasil. No ranking mundial, o Brasil ocupa o primeiro lugar tanto em termos de produção quanto de exportação. Em 2014, foram mais de 45,3 milhões de sacas colhidas. Além disso, o café é o quinto item agrícola mais exportado pelo país (Conab, 2015). Entretanto, está sujeito a várias doenças que podem reduzir a sua produtividade e qualidade, além de aumentar o custo de produção (Carvalho e Chalfoun, 1998).

Entre os principais fitopatógenos responsáveis por perdas de produção do café, destaca-se fungos do gênero *Colletotrichum* causadores de doenças conhecidas como “antracnose”, “seca-de-ramos” ou ainda, “mancha-manteigosa”. Na cultura do café, os principais sintomas causados por *Colletotrichum* são manchas irregulares necróticas nas folhas, gemas, flores e frutos e seca de ramos e ponteiros (Orozco, 2003). No Brasil, o primeiro relato da ocorrência de fungo do gênero *Colletotrichum* spp. em cafeeiro foi feito por Noack (1901), descrevendo a espécie de *Colletotrichum coffeanum* Noack. Os sintomas causados pelo *C. coffeanum* vão desde manchas em folhas novas, de aspecto oleoso, até os frutos onde causa lesões circulares e deprimidas, ocorrendo sua queda prematura (Bitancourt, 1958).

Fungicidas, tais como Triadimenol e Chlorotalonil, aplicados nas lavouras de café, têm se mostrado eficientes no controle da antracnose, entretanto, o uso constante destes produtos químicos podem causar efeitos negativos ao ambiente e a saúde animal, isso porque seus efeitos não ficam restritos somente às pragas, mas também em vias metabólicas comuns de outros organismos (Spadotto 2006; Ferreira et al., 2009a).

A agricultura busca um modelo de sustentabilidade que utilize do mínimo possível de agroquímicos para combater pragas e doenças. Dentre as alternativas de manejo, encontram-se os óleos essenciais de algumas espécies vegetais os quais são eficazes no controle de doenças de plantas, seja por uma ação fungitóxica direta ou por um aumento no nível de resistência, que envolve a síntese de fitoalexinas, enzimas como a peroxidase e polifenoloxidase, e compostos fenólicos, substâncias participantes do mecanismo de defesa de plantas (Rezende et al., 2002; Carneiro, 2007; Anaruma et al., 2010; Leite et al., 2011; Nozaki et al., 2013).

Os óleos extraídos das plantas possuem um custo menor que os fungicidas, são facilmente acessíveis ao agricultor, e oferecem baixo risco à saúde humana e ao ambiente (Martinez, 2002; Carneiro, 2007). No entanto, uma grande parcela de plantas brasileiras ainda não foram pesquisadas e entre as estudadas, pouco se sabe da ação de seus compostos secundários sobre fitopatógenos (Aquino, 2012).

Desta forma, o desenvolvimento de estudos voltados à ação dos compostos químicos de espécies vegetais sobre fitopatógenos se faz necessário como uma alternativa menos agressiva ao ambiente e que possa contribuir com o manejo das doenças das plantas.

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito dos óleos essenciais da Hortelã (*Mentha spicata*), da Citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) e do Capim-limão (*Cymbopogon citratus*) sobre *C. coffeanum* e na interação entre cafeeiro e o fungo.

Material e Métodos

Obtenção do material genético vegetal e do patógeno

Foram utilizadas mudas de café (*Coffea arabica* L.) comercializadas da cultivar Catuaí Vermelho. As mudas foram utilizadas nos experimentos quando atingiram seis pares de folhas totalmente expandidas.

O fungo *C. coffeanum* foi obtido a partir de folhas de cafeeiro contendo sintomas da antracnose, as quais foram desinfestadas em álcool etílico a 50 % por 30 segundos, hipoclorito de sódio a 1 % por um minuto e lavadas em água destilada estéril. As folhas foram secas em papel filtro estéril e em seguida transferidas para placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-água (BDA) e incubados por sete dias a 25 °C em câmara BOD (Biochemical Oxygen Demand) sob fotoperíodo de 12 h na luz e 12 h no escuro. A partir dessas placas obteve-se o isolado monospórico do fungo e foi feita repicagem para novas placas contendo BDA para utilização nos experimentos. O isolado foi preservado pelo método Castellani (Castellani, 1939 citado por Figueiredo e Pimentel, 1989).

Obtenção da suspensão de conídios

A suspensão de conídios foi obtida a partir de placas contendo o fungo esporulado. Os conídios foram

removidos da superfície do meio de cultura com auxílio de uma lamínula e água destilada esterilizada (10 mL). A suspensão resultante foi filtrada em gaze para remoção de fragmentos do meio de cultura. A concentração de conídios foi determinada em hemocitômetro e ajustada para 10^4 conídios mL^{-1} para os experimentos.

Obtenção dos óleos essenciais e preparo dos tratamentos

Os óleos essenciais da hortelã (*Mentha spicata*), da citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) e do capim-limão (*Cymbopogon citratus*) foram obtidos comercialmente pela empresa Emporio Laszlo (Belo Horizonte/MG). As diluições foram feitas conforme Nozaki et al. (2013), com algumas adaptações. Foi utilizado o Tween 80 a 8% para obtenção das concentrações de 0; 5; 7,5; 10 e 15 $\mu\text{L mL}^{-1}$ para cada óleo vegetal. O Tween 80 a 8% foi utilizado como controle (0 $\mu\text{L mL}^{-1}$). As soluções obtidas foram agitadas por cinco minutos utilizando aparelho Vórtex.

Avaliação do efeito dos óleos essenciais sobre folhas destacadas de café

Previamente à inoculação com o fungo, foi avaliado o efeito dos óleos sobre folhas destacadas de café. As folhas foram destacadas das mudas e em seguida desinfestadas em álcool etílico a 50% por 30 segundos, hipoclorito de sódio a 1% por um minuto e lavadas em água destilada estéril. Em seguida, as folhas foram acondicionadas em caixas plásticas (210 x 150 x 80 mm) esterilizadas contendo fina camada de algodão e dois papéis de filtro umedecidos com 20 mL de água destilada estéril e permaneceram por 24h, conforme metodologia descrita por Mendes e Bergamin Filho (1986). Após este período de aclimação, foram feitos os tratamentos com os óleos essenciais nas superfícies abaxial e adaxial das folhas com auxílio de um microaspersor manual.

Foi utilizado um controle negativo (Tween 80 a 8%) e um controle positivo (fungicida contendo princípio ativo Carbendazim). Após 24h as folhas foram avaliadas quanto a fitotoxidez. As folhas que apresentaram características de fitotoxidez foram descartadas e as que permaneceram foram destinadas à inoculação com *C. coffeanum* (10^4 conídios mL^{-1}) nas superfícies abaxial e adaxial das folhas com auxílio

de um microaspersor manual. Os tratamentos e a suspensão de conídios foram aplicados até que toda superfície da folha fosse preenchida com a solução. Após a inoculação, as caixas foram vedadas com filme plástico transparente e, após 48h, retirou-se o filme plástico e as caixas foram mantidas nessas condições até o fim do experimento.

O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições por tratamento, sendo que cada repetição consistiu de uma caixa contendo três folhas.

As folhas foram avaliadas diariamente após a inoculação (DAI), utilizando-se uma escala de notas de 0 a 4, proposta por Várzea (1995) e adaptada por Martins (2008), em que: 0 = ausência de reação visível; 1 = 1 a 2 lesões cloróticas ou acastanhadas; 2 = mais de 2 lesões acastanhadas ou lesões coalescentes. O diâmetro da lesão excede 0,5 mm; 3 = Extensas lesões acastanhadas com numerosos pontos pretos e/ou lesões obscuras. Com mais de 50 % da área do disco lesionada; 4 = Área do disco lesionada (100 %). Para análise estatística seriam utilizadas as médias das notas obtidas em cada repetição.

Avaliação dos óleos essenciais sobre a germinação de conídios

Para avaliar o efeito dos óleos sobre a germinação de conídios, depositou-se 100 μL dos óleos da hortelã e da citronela (0; 5; 7,5 e 10 $\mu\text{L mL}^{-1}$) sobre 100 μL de suspensão de conídios (10^4 conídios mL^{-1}) em placas de ELISA, as quais foram incubadas em BOD a 25 °C sob fotoperíodo de 12 h na luz e 12h no escuro. Após 24h de incubação foram coletadas alíquotas de 50 μL de cada solução (tratamento + inóculo) e feita avaliação através da contagem de conídios germinados e não germinados. O conídio foi considerado germinado quando o comprimento de seu tubo germinativo foi maior ou igual ao menor diâmetro do conídio. Foram contados 400 conídios/tratamento (100 conídios/repetição) com auxílio de hemocitômetro e microscópio óptico. O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições por tratamento, sendo que cada repetição consistiu em um poço da placa de ELISA. Os resultados foram expressos em porcentagem (%) de conídios germinados.

Avaliação dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial

Na avaliação do crescimento micelial, os óleos essenciais da hortelã e da citronela (0; 5, 7,5 e 10 $\mu\text{L mL}^{-1}$) e o meio BDA foram preparados separadamente. O meio BDA foi autoclavado a 120 °C e quando estava fudente cada óleo foi adicionado e a mistura obtida vertida em placas de Petri (~ 20 mL/placa). A preparação foi feita de tal forma que as concentrações dos óleos essenciais no meio fossem as mesmas descritas anteriormente. Após a solidificação do meio, um disco de micélio de 1 cm de diâmetro foi retirado da borda de colônias cultivadas em meio BDA e repicado para o centro de cada placa de Petri. As placas foram vedadas com filme plástico e incubadas a 25 °C em BOD sob fotoperíodo de 12h na luz e 12h no escuro.

Para o experimento foi adotado o delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições por tratamento, sendo que cada repetição consistiu em uma placa de Petri. O crescimento micelial foi verificado diariamente, por meio de medições do diâmetro das colônias em dois eixos perpendiculares entre si previamente estabelecidos na primeira avaliação através de uma marcação no fundo das placas. A avaliação foi feita até que o micélio de um dos tratamentos atingiu a borda da placa. Posteriormente, foi calculado o Índice de Velocidade do Crescimento Micelial (IVCM) (Oliveira, 1991):

$$\text{IVCM} = \Sigma (D - D_a) / N,$$

em que: D = diâmetro médio atual da colônia, D_a = diâmetro médio da colônia no dia anterior e N = número de dias após a inoculação.

Análise dos dados

Os dados obtidos em cada experimento foram submetidos ao teste de normalidade (Kolmogorov-Smirnov) e, em seguida, a análise de variância (ANOVA um critério). O teste de Tukey (comparações múltiplas) a 5% de significância foi realizado para verificar a diferença entre as médias das variáveis analisadas nos experimentos. As análises foram conduzidas utilizando o software Bioestat 5.3 (Ayres, 2007).

Resultados e Discussão

Foi conduzida uma etapa preliminar à inoculação fúngica para avaliar os efeitos dos óleos, em suas

diferentes concentrações, sobre folhas destacadas de café. Observou-se que após 24 horas o óleo de capim-limão, em todas as concentrações, provocou fitotoxidez nas folhas e os tratamentos com hortelã e citronela, na concentração de 15 $\mu\text{L mL}^{-1}$ também foram fitotóxicos, como é mostrado na Figura 1. O óleo de citronela a 10 $\mu\text{L mL}^{-1}$ provocou fitotoxidez, porém, em menor proporção que o óleo de capim-limão (Figura 1).

O tratamento com Tween 80 a 8% (controle) não foi fitotóxico (Figura 1), descartando a possibilidade do efeito fitotóxico ter sido devido ao surfactante utilizado para diluir os óleos. As folhas que apresentaram fitotoxidez foram descartadas do experimento, mantendo-se somente os tratamentos que não apresentaram este efeito após 24h. Assim, as folhas foram inoculadas com o fungo e procedeu-se as avaliações das mesmas. Entretanto, ao longo do experimento, outros tratamentos também se mostraram fitotóxicos, ficando apenas o tratamento citronela 5 $\mu\text{L mL}^{-1}$ e os controles (água, Tween e fungicida), sem demonstrar fitotoxidez e avaliados quanto a severidade da doença.

Até 15 dias após a inoculação, em nenhum dos tratamentos foi observado sintomas de antracnose. Alguns estudos demonstraram a dificuldade de se encontrar metodologias de inoculação do *Colletotrichum* sp. em plantas de cafeeiro, pois a principal via de transmissão da doença é a semente (Ferreira 2009b).

Nechet e Abreu (2002), ao testarem duas metodologias de inoculação de isolados de *Colletotrichum* sp. em mudas de cafeeiro, uma provocando injúrias nas mudas e a outra sem injúria, notaram que nas mudas sem ferimento não houve lesões nas folhas, nem necrose de ponteiros e nas plantas inoculadas através de ferimentos, apenas uma muda das 10 inoculadas apresentou manchas nos folíolos, causada por *Colletotrichum* sp., com isso, mostrando a dificuldade de estabelecer uma metodologia de inoculação eficiente. Um dos fatores que podem ter contribuído para o não aparecimento dos sintomas no presente estudo foi a ausência de ferimentos antes da inoculação.

Outro fator que pode ser levado em consideração para o sucesso da inoculação de *Colletotrichum* sp. é a concentração da suspensão de inóculo a ser aplicada. Este fato foi analisado por Moraes et al. (2006), os quais observaram que quanto maior a concentração de

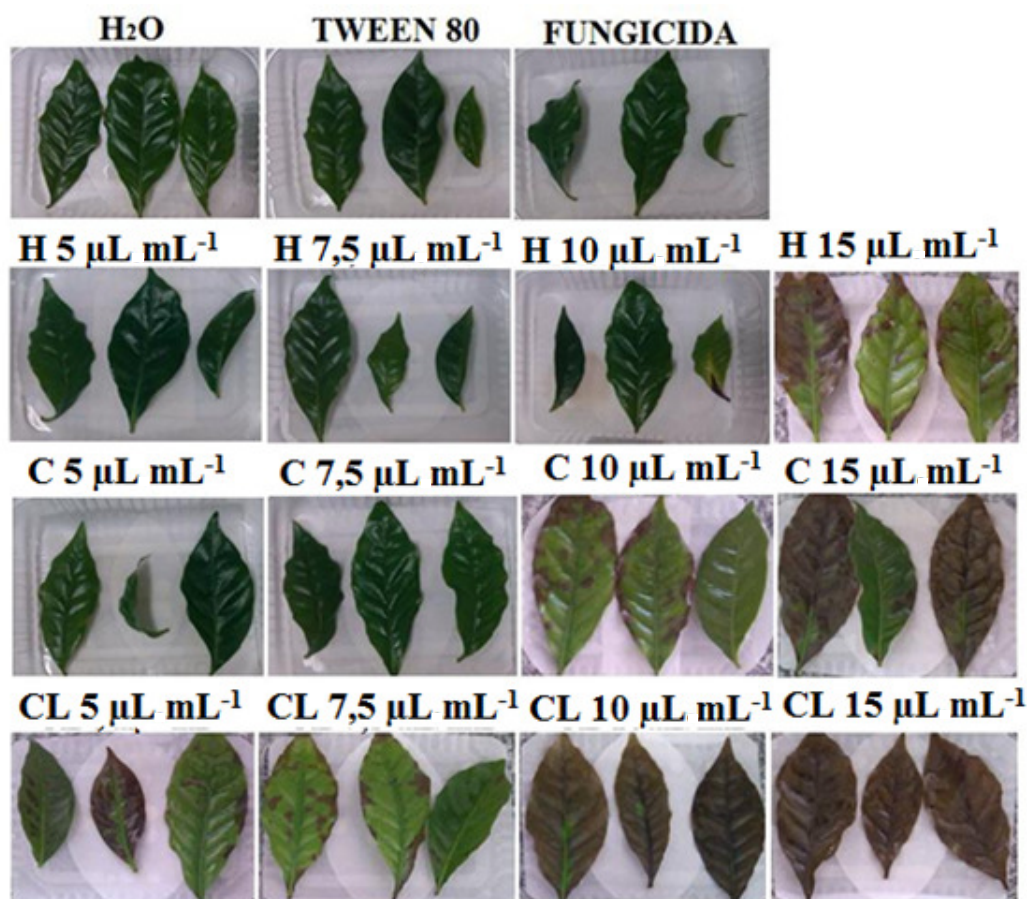


Figura 1. Folhas de café 24 h após os tratamentos com óleos essenciais da Hortelã (H), da Citronela (C) e do Capim-limão (CL) em suas diferentes concentrações. Como as quatro repetições de cada tratamento apresentaram efeito similar, apenas uma repetição foi escolhida para ilustrar o padrão de fitotoxidez (quando existente*).

conídios (10^6 conídios mL^{-1} de água) maior foi a severidade da doença em plantas de feijão.

Desta forma, a junção de vários fatores, principalmente, por não existir uma metodologia totalmente eficiente de inoculação de *Colletotrichum* sp. em plantas, pode ter ocasionado o não surgimento dos sintomas nas folhas destacadas de café, utilizadas no presente estudo.

Quanto ao efeito fitotóxico, os resultados obtidos apontam que os óleos essenciais apresentam em sua composição compostos secundários que são agressivos às folhas de café, sobretudo nas concentrações mais altas utilizadas.

Corroborando com esse estudo, Dorighello (2015), também observou sintomas de fitotoxidez nas folhas destacadas da soja, quando estas foram tratadas com óleo de café cru e torrado na concentração de 2%,

para avaliar o controle da ferrugem asiática da soja. De maneira similar, o tratamento com óleo de neem também causou fitotoxidez em folhas de tomateiro, quando utilizado nas concentrações de 1 e 2 % (Carneiro, 2003). O autor explica que reações de fitotoxidez dependem da espécie de planta sobre a qual o óleo está sendo aplicada, sua idade, bem como, o estágio de desenvolvimento da mesma. Outro fator que pode estar associado à fitotoxidez, são as concentrações utilizadas nos experimentos.

Apesar dos efeitos agressivos que podem causar sob determinadas condições, a aplicação de óleos no controle de doenças em plantas mostra-se eficiente. O óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf. ($6 \mu\text{L mL}^{-1}$) foi o que proporcionou o melhor resultado no controle da antracnose em frutos de maracujá, sem apresentar reações fitotóxicas, quando

comparado aos óleos essenciais de *Lippia sidoides* Cham e *Ocimum gratissimum* L. (0, 2, 4, 6 e 8 $\mu\text{L mL}^{-1}$) (Aquino, 2012). Anaruma et al. (2010), ao testarem óleos essenciais de 28 plantas no controle *Colletotrichum gloeosporioides*, também observaram que o óleo de *C. citratus* obteve uma eficiência significativa quanto ao fungicida utilizado, com o benefício de ser um produto orgânico e sem ocasionar danos fisiológicos nas plantas.

Em mudas de café, os óleos essenciais de canela, citronela, capim-limão, cravo-da-índia, árvore-de-chá,

tomilho, neem e eucalipto foram utilizados na concentração de 1000 $\mu\text{L mL}^{-1}$, para o controle da cercosporiose (*Cercospora coffeicola*) em três cultivares, sob condições de casa de vegetação. Os tratamentos não causaram fitotoxidez em nenhuma das cultivares de cafeeiro. Foi observado que o óleo essencial de *C. winterianus* Jowitt foi um dos mais promissores no controle da doença em todas as cultivares (Pereira et al., 2011).

Ao comparar os resultados observados por diferentes autores, vários fatores devem ser levados em consideração. Segundo Martinez (2002), o tipo de folha a ser usada (frescas ou secas) na produção dos extratos, possíveis diferenças de conteúdo dos compostos bioativos encontrados nas folhas, devido à variação genética entre árvores ou da região geográfica de coleta do material, bem como, o tipo de solvente e a concentração dos óleos usados nos experimentos podem levar a resultados variados.

No presente estudo, acredita-se que as concentrações utilizadas contribuíram para fitotoxidez observada. Entretanto, como nenhum trabalho havia sido conduzido em café com os óleos da hortelã, da citronela e do capim-limão, este estudo serve como ponto de partida para que outros sejam conduzidos com estes óleos, utilizando concentrações menores e também com testes envolvendo plantas.

Considerando os testes *in vitro* para avaliar a atividade dos óleos essenciais sobre *C. coffeanum*, foram feitos com os óleos essenciais da citronela e da hortelã e com concentrações menores (5 $\mu\text{L mL}^{-1}$; 7,5 $\mu\text{L mL}^{-1}$ e 10 $\mu\text{L mL}^{-1}$), os quais não haviam provocado fitotoxidez nas folhas nas primeiras horas após os tratamentos ou causaram fitotoxidez em menor proporção. Os resultados da germinação de conídios do fungo estão apresentados na Figura 2. Os dois óleos

nas três concentrações utilizadas reduziram significativamente a germinação de conídios do fungo comparados ao controle e foram semelhantes ao fungicida.

Comparando a ação do óleo da hortelã, nas três concentrações, observa-se que quanto maior a concentração, menor foi a germinação de conídios, com aproximadamente 80 % de inibição sendo observada com óleo da hortelã 10 $\mu\text{L mL}^{-1}$ (Figura 2). Esta concentração diferiu significativamente das concentrações menores. Contudo, para citronela, não houve diferença entre as concentrações utilizadas, o que pode ser explicado pela grande variação no erro-padrão das diferentes concentrações.

Considerando os dois óleos, observou-se um resultado semelhante nas concentrações de 5 $\mu\text{L mL}^{-1}$ e 10 $\mu\text{L mL}^{-1}$, porém, a citronela a 7,5 $\mu\text{L mL}^{-1}$ promoveu uma inibição da germinação maior do que da hortelã, nesta mesma concentração (Figura 2).

Esse efeito fungitóxico de óleos essenciais tem sido comprovado sobre o desenvolvimento de vários fitopatógenos. Pereira et al. (2011), notou que o óleo essencial de citronela reduziu totalmente a germinação de conídios de *Hemileia vastatrix* a partir da concentração de 1000 $\mu\text{L mL}^{-1}$. Ao analisar o efeito desse óleo sobre a germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi*, Medice, et al. (2007), observaram que o óleo na concentração de 0,5% também interferiu na germinação dos urediniósporos do patógeno.

Com relação ao crescimento micelial de *C. coffeanum*, foi observado que os dois óleos nas três concentrações utilizadas reduziram significativamente o crescimento micelial do fungo comparados ao controle, entretanto, citronela a 5 $\mu\text{L mL}^{-1}$ levou a uma menor inibição do crescimento micelial quando comparado aos óleos nas outras concentrações (Figura 3).

Sousa et al. (2012) também testaram o efeito de diferentes óleos essenciais no crescimento micelial de *C. gloeosporioides* em pimenta. Os autores observaram que, dentre os óleos avaliados, o óleo da hortelã foi um dos que apresentou os melhores resultados quanto a inibição do crescimento do fungo em todas as cinco concentrações utilizadas (0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1 %).

Costa et al. (2011), ao avaliarem o crescimento micelial *in vitro* de *Rhizoctonia solani*, *Fusarium*

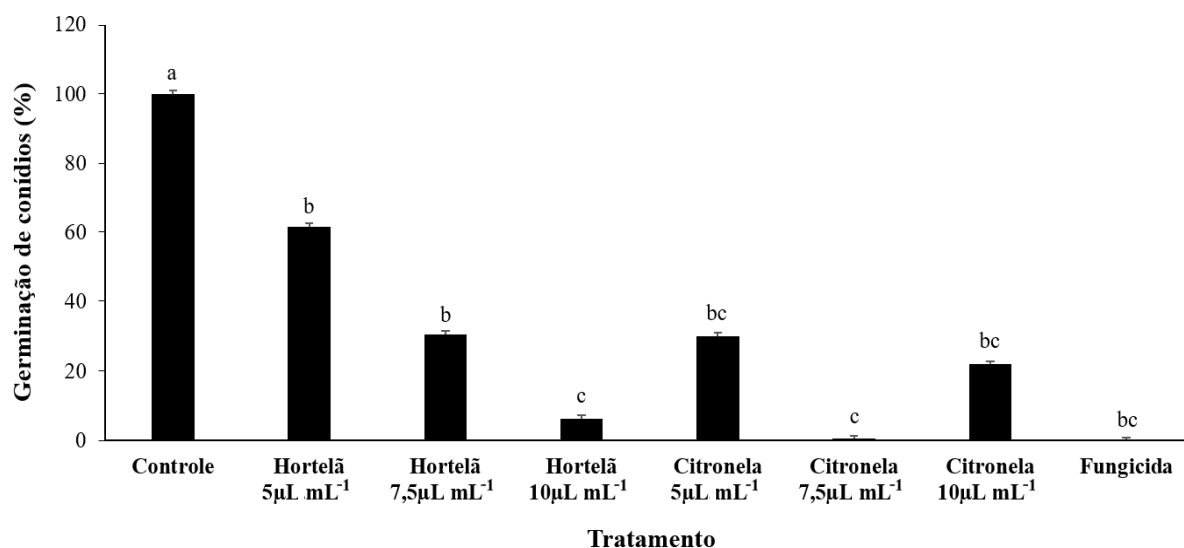


Figura 2. Porcentagem de germinação de conídios de *C. coffeanum* nos diferentes tratamentos. Controle = Tween 80. Barras (médias \pm erro-padrão) seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de significância.

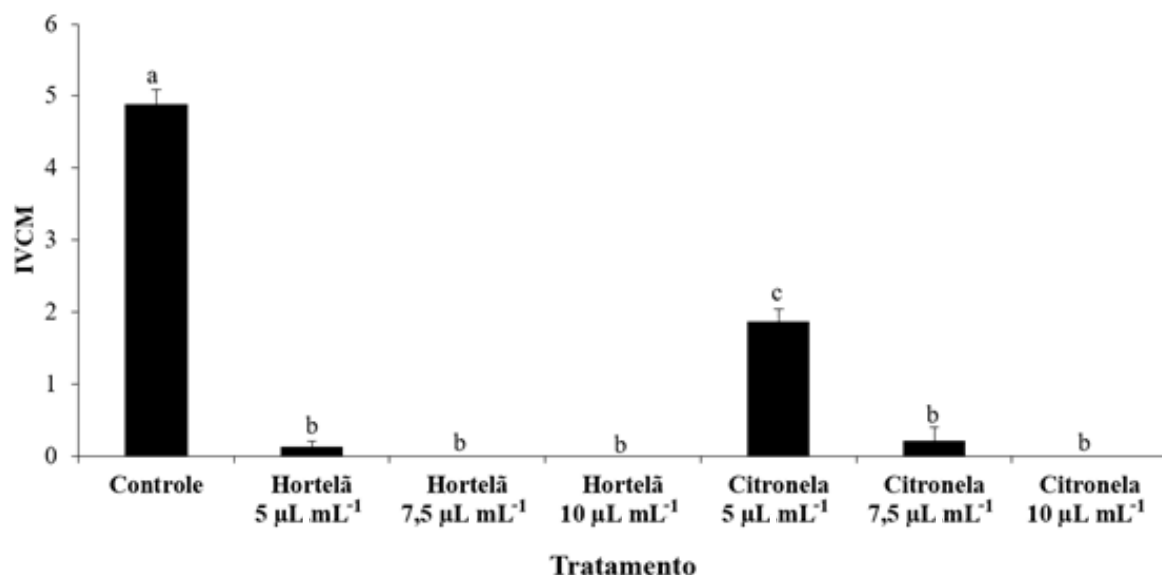


Figura 3. Índice de Velocidade e do Crescimento Micelial (IVCM) de *C. coffeanum* nos diferentes tratamentos ($\mu\text{L mL}^{-1}$). Barras (médias \pm erro-padrão) seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de significância.

solani, *Fusarium oxysporum*, *Macrophomina phaseolina* observaram que o óleo de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry, popularmente conhecido como cravo-da-índia, afetou as estruturas desses fungos. Os autores explicam que isso ocorre devido à hidrofobicidade do óleo essencial que permitiu uma interação entre o óleo e os lipídeos da membrana celular dos fungos, gerando danos na sua permeabilidade e alterações em sua estrutura.

Pode-se observar no presente estudo, que os óleos essenciais analisados promoveram reduções significativas na germinação de conídios e crescimento micelial de *C. coffeanum*. Entretanto, é importante que estudos adicionais sejam conduzidos a nível morfológico e molecular para avaliar os efeitos causados pelos óleos nas estruturas dos micro-organismos, já que se sabe que os óleos essenciais podem ocasionar diversas alterações morfológicas em

fitopatógenos. Essas interferências podem levar desde a desorganização dos conteúdos celulares até a intensa fragmentação de hifas afetando diretamente o desenvolvimento do fitopatógeno (Costa et al., 2011).

Em um estudo feito analisando o efeito do óleo essencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) sobre o crescimento e morfogêneses de espécies de *Aspergillus*, o autor observou uma inibição de 100 % na germinação dos esporos dos fungos estudados (80 $\mu\text{L mL}^{-1}$ e 40 $\mu\text{L mL}^{-1}$). Além disso, quando expostos ao óleo na concentração 20 $\mu\text{L mL}^{-1}$, os conídios apresentaram tubos germinativos menores quando comparado ao controle. Análises de microscopia de luz (400 x), revelaram alterações morfológicas, tais como, diminuição dos conídios, perda visível de conteúdo citoplasmático, perda de pigmentação, fragmentação de hifas e distorção de conidióforos (Carmo et al., 2008).

Considerando tais aspectos, nota-se que óleos essenciais possuem efeito direto sobre as estruturas de fungos fitopatogênicos. Dessa forma, tornam-se compostos relevantes a serem investigados como alternativa aos fungicidas existentes para controle de doenças em plantas.

Conclusão

1. Os óleos essenciais da hortelã, da citronela e do capim-limão causaram fitotoxidez em folhas destacadas de café, em algum momento das avaliações, sobretudo quando aplicados em concentrações maiores.

2. Não foram observados sintomas da antracnose em nenhum dos tratamentos com folhas destacadas de café, demonstrando a dificuldade de se encontrar metodologias de inoculação do *Colletotrichum* sp. em plantas de café.

3. Os óleos essenciais de hortelã e da citronela promoveram redução significativa da germinação de conídios e crescimento micelial do fungo *C. coffeanum*, mostrando-se compostos relevantes como alternativas aos fungicidas comerciais.

Agradecimentos

À Universidade Federal da Bahia e ao Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual da Bahia pelo fornecimento do isolado de *C. coffeanum*.

Literatura Citada

- AQUINO, C. F. et al. 2012. Ação e caracterização química de óleos essenciais no manejo da antracnose do maracujá. *Revista Brasileira de Fruticultura* 34 (4):1059-1067.
- ANARUMA, N. D. et al. 2010. Control of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. in yellow passion fruit using *Cymbopogon citratus* essential oil. *Brazilian Journal of Microbiology* 41(1):66-73.
- AYRES, M. et al. 2007. Bioestat: aplicações estatísticas nas áreas das ciências bio-médicas. Belém, PA. ONG Mamiraua.
- BITANCOURT, A. A. 1958. As manchas da folha do cafeeiro. *O Biológico (Brasil)* 24 (4):191-201.
- CARMO, E. S. et al. 2008. Effect of *Cinnamomum zeylanicum* Blume essential oil on the growth and morphogenesis of some potentially pathogenic *Aspergillus* species. *Brazilian Journal Microbiology* 39 (1): 91-97.
- CARNEIRO, S. M. T. P. G. 2003. Efeito de extratos de folhas e do óleo de Nim sobre o oídio do tomateiro. *Summa Phytopathologica (Brasil)* 29 (3):262-265.
- CARNEIRO, S. M. T. P. G. et al. 2007. Eficácia de extratos de Nim para o controle do oídio do feijoeiro. *Summa Phytopathologica (Brasil)* 33 (1): 34-39.
- CARVALHO, V. L.; CHALFOUN, S. M. 1998. Produção de mudas de cafeeiros. Belo Horizonte, MG, EPAMIG. Boletim Técnico n. 62. 44p.
- CASTELLANI, A. 1989. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. In: Figueiredo, M. B.; Pimentel, C. P. V. Métodos de preservação de fungos em cultura. *Biológico (Brasil)* 55 (1,2): 27-33.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira CAFÉ- Safra 2015. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_01_14_11_57_33_boletim_cafe_janeiro_2015.pdf>. Acesso em: 24 de julho. 2015.

- COSTA, A. R. T. et al. 2011. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais* 13 (2):240-245.
- DORIGHELLO, D. V. et al. 2015. Controlling Asian soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) with *Bacillus* spp. and coffee oil. *Crop Protection* 67: 59-65.
- FERREIRA, J. B. et al. 2009a. Sensibilidade de *Colletotrichum gloeosporioides* (mancha manteigosa do cafeeiro) a diferentes concentrações de fungicidas. *Ciência e Agrotecnologia (Brasil)* 33:2052-2058.
- FERREIRA, J. B. et al. 2009b. Análise da dinâmica, estrutura de focos e arranjo espacial da mancha manteigosa em campo. *Ciência e Agrotecnologia (Brasil)* 33 (1): 24-30.
- LEITE, C. D. et al. 2011. Extrato de alho e óleo vegetal no controle do míldio da videira. *Revista Brasileira de Fruticultura* 33(2):429-436.
- MARTINEZ, S. S. ed. 2002. *O Nim – Azadirachta indica*: Natureza, Usos Múltiplos, Produção. Londrina, PR, IAPAR. 142p.
- MARTINS, F. G. 2008. Aspectos Epidemiológicos e Fisiológicos da interação *Colletotrichum gloeosporioides* PENZ X mudas micropropagadas de cafeeiro (*Coffea arabica*). Dissertação Mestrado. Lavras, MG, Universidade Federal de Lavras. 128p.
- MEDICE, R. et al. 2007. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. *Ciência Agrotecnologia (Brasil)* 31 (1):83-90.
- MENDES, B. M. J.; BERGAMIN FILHO, A. 1986. Adaptação da técnica da cultura de folha destacada para quantificação dos parâmetros epidemiológicos monocíclicos da ferrugem do feijoeiro (*Uromices phaseoli* var. *typica*). *Fitopatologia Brasileira* 11:103-114.
- McKINNEY, R. H. 1923. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. *Journal of Agricultural Research* 31 (9): 827-840.
- MORAES, S. R. et al. 2006. Efeito de silício na incidência e na severidade da antracnose do feijoeiro. *Fitopatologia Brasileira* 31(1): 69-75.
- NECHET, K. L.; ABREU, M. S. 2002. Caracterização morfológica e testes de patogenicidade de isolados de *Colletotrichum* sp. obtidos de cafeeiro. *Ciência Agrotecnologia (Brasil)* 26(6):1135-1142.
- NOACK, F. J. 1901. As manchas das folhas dos cafeeiros. *Boletim da Agricultura (Brasil)* 1:5.
- NOZAKI, M. H. et al. 2013. Controle alternativo de *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de goiabeira com óleos essenciais. *Revista Academica de Ciências Agrárias Ambientais (Brasil)* 11(Supl.1):53-57.
- OLIVEIRA, J. A. 1991. Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L.) e pimentão (*Capsicum annuum* L.). Dissertação Mestrado. Lavras, MG, Universidade Federal de Lavras. 111p.
- OROZCO MIRANDA, E. F. 2003. Caracterização morfológica, molecular, bioquímica e patogênica de isolados de *Colletotrichum* spp. associados ao cafeeiro em Minas Gerais e Comparação com *Colletotrichum kahawae*. Tese Doutorado. Lavras, MG, Universidade Federal de Lavras. 147p.
- PEREIRA, R. B. et al. 2011. Potential of essential oils for the control of brown eye spot in coffee plants. *Ciência e Agrotecnologia (Brasil)* 35 (1): 115-123.
- RESENDE, M. L. V. et al. 2002. Induction of resistance in cocoa against *Crinipellis pernicioso* e *Verticillium dahliae* by acibenzolar-S-methyl (ASM). *Plant Pathology* 51:621-628.
- SOUSA, R. M. S.; SERRA, I. M. R. S.; MELO, T. A. 2012. Efeito de óleos essenciais como alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, em pimenta. *Summa Phytopathologica (Brasil)* 38(1):42-47.

- SPADOTTO, C. A. 2006. Abordagem interdisciplinar na avaliação ambiental de agrotóxicos. Revista Núcleo de Pesquisa Interdisciplinar (Brasil). 9p.
- VÁRZEA, V. M. P. 1995. Variabilidade em *Colletotrichum* spp. de cafeeiro. Pesquisa de fonte de resistência ao *C. kahawae*. PhD.Thesis. Oeiras, Portugal, Instituto de Investigação Científica Tropical. 56p.
-