

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE AGRONOMIA

**AVALIAÇÃO DA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Sclerotinia sclerotiorum* UTILIZANDO ÓLEOS ESSENCIAIS**

LUCAS DOS SANTOS NASCIMENTO

UBERLÂNDIA - MG

DEZEMBRO - 2019

LUCAS DOS SANTOS NASCIMENTO

**AVALIAÇÃO DA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Sclerotinia sclerotiorum* UTILIZANDO ÓLEOS ESSENCIAIS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Agronomia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Fernando Cezar Juliatti

Uberlândia - MG

Dezembro - 2019

LUCAS DOS SANTOS NASCIMENTO

**AVALIAÇÃO DA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Sclerotinia sclerotiorum* UTILIZANDO ÓLEOS ESSENCIAIS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Agronomia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Fernando Cezar Juliatti

Aprovado pela banca examinadora em 17 de Dezembro de 2019.

---

Prof. Dr. Fernando Cezar Juliatti

Orientador

---

Engenheiro agrônomo Alicionon de Oliveira Caetano

Membro da banca

---

Mestre Luciana Nunes Gontijo

Membro da banca

Sou muito grato a todo apoio que recebi de minha família, por nunca deixarem de estar ao meu lado e por me darem a oportunidade de me dedicar aos estudos, além de forças para continuar. Sem o amor e carinho de meus pais William e Lana e de meu irmão Leandro, eu jamais teria chegado até aqui.

### **DEDICO**

### **AGRADEÇO**

Aos meus amigos por todos os momentos inesquecíveis e todo o tempo que passamos juntos.

## RESUMO

Produtos naturais podem ser usados no controle de doenças de plantas como uma forma alternativa para a redução do uso indiscriminado de defensivos. Vários extratos brutos e óleos essenciais de diferentes espécies vegetais já foram testados sobre fungos fitopatogênicos em diversos trabalhos e mostram eficiência tanto na ação antimicrobiana como indutora de resistência. O presente trabalho teve como objetivo avaliar *in vitro* o efeito de óleos essenciais no crescimento micelial do fungo fitopatogênico *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Foram obtidos óleos essenciais de manjeriço (*Ocimum basilicum*), erva-cidreira (*Lippia alba*), erva baleeira (*Varronia curassavica*) e velandinho (*Croton tetradenius*) em parceria com a Universidade Federal do Sergipe (UFSE). Realizou-se a diluição em série a fim de obter os óleos nas concentrações de 0, 1, 10, 50 e 100 ppm, sendo três repetições para cada concentração. Os óleos foram aplicados sobre o meio de cultura BDA e em seguida um disco de micélio contendo *Sclerotinia sclerotiorum* foi depositado no centro da placa de Petri de 9 cm de diâmetro. As placas foram incubadas à temperatura de  $22 \pm 3$  °C e fotoperíodo de 12 horas. As avaliações foram constituídas por medições diárias de duas medidas diametralmente opostas das colônias, realizadas no verso das placas. As avaliações foram feitas 24 horas após a incubação e efetuadas até a colônia atingir toda a superfície do meio de cultura. Os óleos essenciais apresentaram porcentagens de inibição do crescimento micelial superiores a 30% em todas as concentrações.

**PALAVRAS-CHAVE:** Extratos vegetais; Mofo branco; Controle alternativo.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Diâmetro médio micelial das colônias de <i>S. sclerotiorum</i> submetidos a diferentes óleos essenciais na concentração de 1 ppm, avaliados aos dois e três dias após a aplicação.....	13
<b>Tabela 2</b> - Diâmetro médio micelial das colônias de <i>S. sclerotiorum</i> submetidos a diferentes óleos essenciais na concentração de 10 ppm, avaliados aos dois e três dias após a aplicação.....	15
<b>Tabela 3</b> - Diâmetro médio micelial das colônias de <i>S. sclerotiorum</i> submetidos a diferentes óleos essenciais na concentração de 50 ppm, avaliados aos dois e três dias após a aplicação.....	16
<b>Tabela 4</b> - Diâmetro médio micelial das colônias de <i>S. sclerotiorum</i> submetidos a diferentes óleos essenciais na concentração de 100 ppm, avaliados aos dois e três dias após a aplicação.....	18
<b>Tabela 5</b> - Análise estatística pelo teste de Tukey do diâmetro das colônias de <i>S. sclerotiorum</i> aos três dias após a aplicação dos diferentes óleos essenciais nas diferentes concentrações. ....	9

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Porcentagem de inibição do crescimento micelial de <i>S. sclerotiorum</i> aos 3 dias após a aplicação de óleos essenciais na concentração de 1 ppm. ....	14
<b>Figura 2</b> – Porcentagem de inibição do crescimento micelial de <i>S. sclerotiorum</i> aos 3 dias após a aplicação de óleos essenciais na concentração de 10 ppm. ....	16
<b>Figura 3</b> – Porcentagem de inibição do crescimento micelial de <i>S. sclerotiorum</i> aos 3 dias após a aplicação de óleos essenciais na concentração de 50 ppm. ....	17
<b>Figura 4</b> – Porcentagem de inibição do crescimento micelial de <i>S. sclerotiorum</i> aos 3 dias após a aplicação de óleos essenciais na concentração de 100 ppm. ....	19
<b>Figura 5</b> – Efeito das concentrações (ppm) dos óleos essenciais de manjerição (M19 e M23), erva-cidreira (C1) e erva-baleeira (B2) sobre o crescimento micelial de <i>S. sclerotiorum</i> . ....	20

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>8</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>10</b>
2.1 Obtenção do isolado de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .....	10
2.2 Óleos essenciais .....	10
2.3 Preparo do meio de cultura .....	11
2.4 Efeito dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial de <i>S. sclerotiorum</i> ..	12
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>4 CONCLUSÕES .....</b>	<b>10</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>11</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores consumidores de defensivos agrícolas do mundo, sendo o país responsável pelo consumo de mais da metade da quantidade de defensivos utilizados na América Latina (MMA, 2000). Seu uso frequente provoca graves desequilíbrios ambientais, resultando na contaminação de alimentos, animais e recursos hídricos, e ocasionando a redução na qualidade e na expectativa de vida da população (FONSECA et al., 2015).

Apesar da facilidade de aquisição e de uso, provocam o desenvolvimento de populações de fitopatógenos resistentes aos compostos químicos, além do desequilíbrio ambiental causado pela falta de seletividade de alguns dos produtos utilizados (FRAGOSO et al., 2002). Por isso, o manejo ecológico e sustentável de patógenos com o objetivo de reduzir o uso de fungicidas deve ser priorizado, uma vez que estes causam danos ao homem e ao meio ambiente (TALAMINI et al., 2004).

Produtos naturais podem ser usados no controle de doenças de plantas como um meio eficiente para a redução do uso de defensivos. Os óleos essenciais são compostos naturais produzidos por meio de vias metabólicas secundárias das plantas e compreendem misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas, que ocorrem em estruturas secretoras especializadas das plantas. Na natureza, estes produtos são importantes para a proteção das plantas, pois têm ação antibacteriana, antifúngica, inseticida e também contra a predação de herbívoros. Além disso, podem atrair insetos, favorecendo a dispersão de pólenes e sementes, e repelir aqueles indesejáveis (SIMÕES et al., 2004).

A exploração dos metabolitos secundários dos extratos brutos e dos óleos essenciais de plantas surge como uma forma potencial de controle alternativo de doenças das plantas cultivadas. Vários extratos brutos e óleos essenciais de diferentes espécies vegetais já foram testados sobre fungos fitopatogênicos em diversos trabalhos e mostram eficiência tanto na ação antimicrobiana como indutora de resistência (GARCIA et al., 2012; TAKATSUKA et al., 2003; BALBI-PENA et al., 2006; PEREIRA et al., 2006; KNAAK et al., 2010).

Estas substâncias naturais podem ser uma opção viável na busca pelo controle alternativo, pois apresentam como vantagem a não contaminação ambiental e oferece menor risco à saúde dos animais e humanos (SILVA, 2018). Possuem eficiência comprovada no controle de doenças em diversas culturas, visto que contém componentes capazes de desempenhar importantes funções na interação patógeno-hospedeiro, por ação bactericida (VIGO-SCHULTZ, 2006), fungitóxica (OLIVEIRA et al., 2010) ou indução de respostas de defesa da planta, através da produção de fitoalexinas, aumento da atividade das proteínas relacionadas à patogênese (PRPs) e da síntese de outros compostos bioquímicos e estruturais de defesa da planta (PEREIRA, 2008).

A exploração da bioatividade antimicrobiana utilizando estes metabólitos secundários constitui-se em mais uma forma potencial para o controle de doenças em plantas cultivadas (SCHWAN-ESTRADA et al., 2005). Atualmente há o crescimento da exigência dos consumidores por alimentos livres de defensivos agrícolas, havendo a necessidade de métodos alternativos com eficiência comprovada para o controle de pragas e doenças no sistema de produção orgânico (STANGARLIN et al., 1999; VENZON et al., 2006). Considerando-se o valor das plantas medicinais não apenas como recurso terapêutico, mas também como fonte de controle alternativo de pragas e doenças, torna-se importante estabelecer linhas de ações voltadas ao desenvolvimento de técnicas de manejo sustentável, utilizando espécies que possibilitem contribuir para a manutenção do equilíbrio dos ecossistemas tropicais (REIS, 1996; SHELDON et al., 1997).

Estas linhas de ações sustentáveis podem ser estendidas para diversos fitopatógenos, dentre eles o fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Este fungo é considerado um dos patógenos mais importantes no mundo e está distribuído em todas as regiões produtoras, sejam elas temperadas, subtropicais ou tropicais. O controle da doença é baseado no manejo cultural, de forma a reduzir o potencial de inóculo, uma vez que, por se tratar de um patógeno de solo, o uso de fungicidas químicos, além de dispendioso, não é muito eficiente (CAMPANHOLA et al., 2003). O fungo produz estruturas de resistência denominadas escleródios, dentro e na superfície dos tecidos colonizados, que retornam ao solo com os resíduos da cultura e são responsáveis pela sobrevivência do fungo. Os escleródios podem permanecer no solo por até 11 anos, conservando intacto seu poder patogênico (LEITE, 2005).

Dessa forma, busca-se atualmente, desenvolver compostos capazes de inibir o crescimento de patógenos de maneira sustentável. Desse modo, objetiva-se avaliar *in vitro* o efeito de óleos essenciais no crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Micologia e Proteção de Plantas - LAMIP, situado no Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia – UFU.

### **2.1 Obtenção do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum***

O isolado de *S. sclerotiorum* foi obtido a partir de escleródios formados no interior da haste de soja, provenientes de campos comerciais de Jataí-GO. Em laboratório, os escleródios foram desinfestados em álcool a 50% por 30 segundos e em hipoclorito de sódio a 0,5% por 60 segundos. Após isto, os escleródios foram enxaguados em água destilada estéril por três vezes e transferidos para placas de Petri contendo meio BDA. As placas de Petri foram incubadas a  $22 \pm 3$  °C e fotoperíodo de 12 horas, sob luz fluorescente. Assim que os escleródios começaram a germinar, retirou-se um disco de BDA com aproximadamente 0,6 cm de diâmetro, contendo micélio, da borda da colônia e transferiu-se para placa de Petri, incubando-o novamente nas mesmas condições descritas acima (GARCIA et al., 2012).

### **2.2 Óleos essenciais**

Os óleos essenciais foram obtidos em parceria com a Universidade Federal do Sergipe (UFSE), e foram extraídos de acordo com a metodologia de Nizio (2015), a partir de folhas de uma cultivar de erva cidreira (*Lippia alba* (Mill) N. E. Brown), folhas de sete cultivares de erva baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.), folhas de 16 cultivares de manjericão (*Ocimum basilicum* L.) e folhas de uma cultivar de velandinho (*Croton tetradenius*), caracterizados no Quadro 1.

**Quadro 1** – Relação das cultivares utilizadas para a extração do óleo essencial.

Nome Científico	Nome popular	Cultivar	Tratamento
<i>Lippia alba</i>	Erva cidreira	LA-57	C1
<i>Varronia curassavica</i>	Erva baleeira	VCUR-002	B2
		VCUR-101	B3
		VCUR-104	B4
		VCUR-105	B5
		VCUR-302	B6
		VCUR-403	B7
		VCUR-503	B8
		<i>Ocimum basilicum</i>	Manjeriço
Ararat	M10		
Dark Opal	M11		
Edwina	M12		
Elidia	M13		
Genovese	M14		
Grecco a Palla	M15		
Green Globe	M16		
Italina Large Leaf	M17		
Limoncino	M18		
Magical Michael	M19		
Maria Bonita	M20		
Nufar F1	M21		
Osmin	M22		
Red Genovese	M23		
Sweet Dani	M24		
<i>Croton tetradenius</i>	Velandinho	CTE-13	V25

Fonte: Autor

### 2.3 Preparo do meio de cultura

Para preparar o meio de cultura, foram utilizados 200 g de batata, 20 g de dextrose, 15 g de ágar e 1 L de água destilada. As batatas foram lavadas e bem escovadas, cortadas em fatias finas sem retirar as cascas, fervidas em 1 L de água destilada até ficarem bem macias e então coadas mantendo somente o caldo. Em seguida, foram adicionados o ágar e a dextrose e completou-se o volume a 1 L com água destilada, o frasco foi vedado e autoclavado por 20 minutos.

## 2.4 Efeito dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial de 25 (óleos essenciais) x 5 (concentrações). As concentrações foram de 0, 1, 10, 50 e 100 ppm com 3 repetições para cada concentração.

O meio BDA foi vertido em placas de Petri na Câmara de Fluxo Laminar presente no LAMIP. Sobre o meio solidificado foram pipetados 60µL do óleo essencial nas concentrações de 1, 10, 50 e 100 ppm, e espalhados por toda a placa com o auxílio de uma Alça de Drigalski. Em seguida, um disco de BDA de 5 mm de diâmetro contendo o micélio de *S. sclerotiorum* foi colocado no centro da placa, que foram vedadas com um filme plástico para evitar a contaminação. A concentração 0 foi constituída apenas do meio BDA solidificado sem a adição superficial do óleo essencial. Após a vedação, as placas foram incubadas em câmara do tipo B.O.D. por um período de quatro dias, a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas.

As avaliações foram constituídas por medições diárias de duas medidas diametralmente opostas das colônias, realizadas no verso das placas de Petri, iniciadas 24 horas após a incubação e efetuadas até a colônia atingir toda a superfície do meio de cultura. A partir dos dados do crescimento micelial aos três dias após a aplicação determinou-se a porcentagem de inibição do crescimento micelial, através da equação:

$$\text{PICM} = \frac{(\text{DTT} - \text{DTO})}{\text{DTT}} \times 100$$

Onde, PICM: porcentagem de inibição do crescimento micelial; DTT: diâmetro do tratamento testemunha; DTO: diâmetro do tratamento com óleo.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANAVA). As médias de todos os óleos na mesma concentração foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância para cada concentração e para cada dia após inoculação. As médias de cada óleo nas diferentes concentrações e nos diferentes dias após a inoculação foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. Os testes foram realizados por meio do software SISVAR (FERREIRA, 2000).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na concentração de 1 ppm e aos dois dias após aplicação (DAA), os tratamentos M11, M9, M21, M13, M10, de óleos de manjeriço e os tratamentos B5, B2, B3, de óleos de erva-baleeira (Tabela 1) apresentaram menor crescimento micelial, assim, houve o controle do crescimento inicial do patógeno. Os outros óleos foram metabolizados pelo fungo e utilizados como nutrientes para seu crescimento.

**Tabela 1** - Diâmetro médio micelial das colônias de *S. sclerotiorum* submetidos a diferentes óleos essenciais na concentração de 1 ppm, avaliados aos dois e três dias após a aplicação.

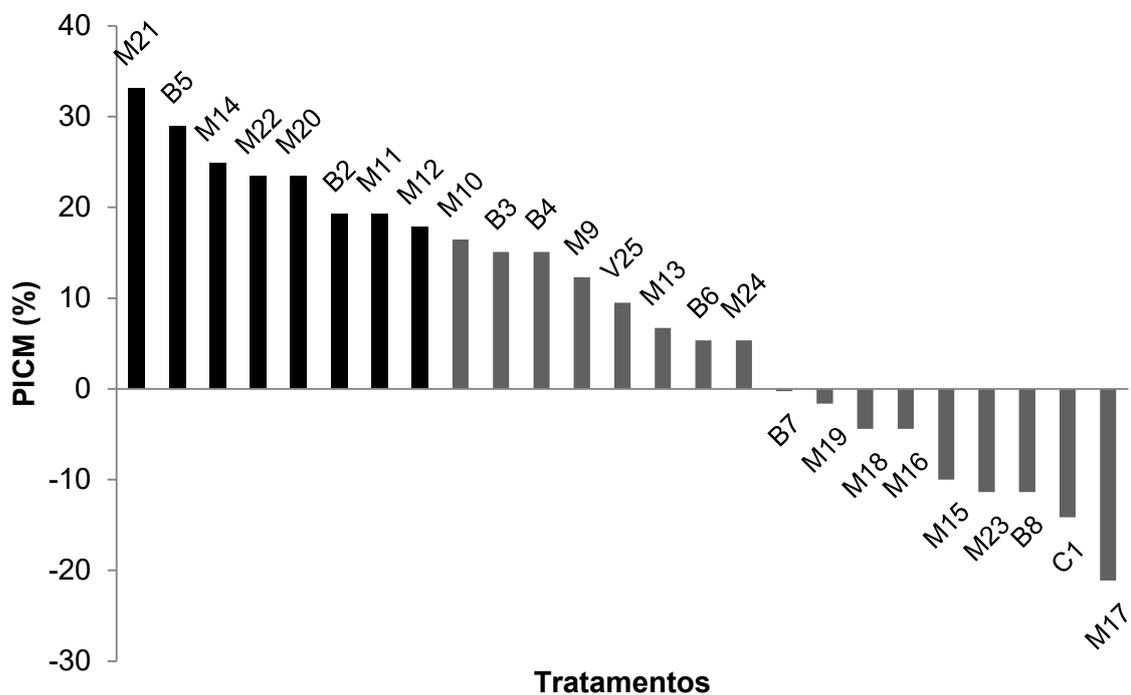
2 dias após aplicação		3 dias após aplicação	
Óleos 1 ppm	Diâmetro (cm)	Óleos 1 ppm	Diâmetro (cm)
M11 - Dark Opal	1,4 a	M21 - Nufar F1	4,8 a
B5 - VCUR-105	1,5 a	B5 - VCUR-105	5,1 a
B2 - VCUR-002	1,5 a	M14 - Genovese	5,4 a
M9 - Anise	1,5 a	M22 - Osmin	5,5 a
M21 - Nufar F1	1,6 a	M20 - Maria Bonita	5,5 a
B3 - VCUR-101	1,6 a	B2 - VCUR-002	5,8 a
M13 - Elidia	1,8 a	M11 - Dark Opal	5,8 a
M10 - Ararat	1,9 a	M12 - Edwina	5,9 a
B7 - VCUR-403	2,0 b	M10 - Ararat	6,0 b
M22 - Osmin	2,2 b	B3 - VCUR-101	6,1 b
M14 - Genovese	2,3 b	B4 - VCUR-104	6,1 b
B4 - VCUR-104	2,3 b	M9 - Anise	6,3 b
B6 - VCUR-302	2,4 b	V25 - CTE-13	6,5 b
M17 - Italina Large Leaf	3,1 c	M13 - Elidia	6,7 b
M20 - Maria Bonita	3,1 c	B6 - VCUR-302	6,8 b
B8 - VCUR-503	3,2 c	M24 - Sweet Dani	6,8 b
M12 - Edwina	3,3 c	B7 - VCUR-403	7,2 c
V25 - CTE-13	3,3 c	M19 - Magical Michael	7,3 c
C1 - LA-57	3,3 c	M18 - Limoncino	7,5 c
M24 - Sweet Dani	3,6 c	M16 - Green Globe	7,5 c
M16 - Green Globe	4,1 d	M15 - Grecco a Palla	7,9 d
M19 - Magical Michael	4,2 d	M23 - Red Genovese	8,0 d
M18 - Limoncino	5,6 e	B8 - VCUR-503	8,0 d
M15 - Grecco a Palla	5,7 e	C1 - LA-57	8,2 d
M23 - Red Genovese	5,7 e	M17 - Italina Large Leaf	8,7 d

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Fonte: Autor

As maiores porcentagens de inibição foram dos óleos essenciais de manjeriço M21, M14, M22, M20, M11 e M12 e de erva baleeira B5 e B2 (Figura 1).

**Figura 1** – Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* aos 3 dias após a aplicação de óleos essenciais na concentração de 1 ppm.



Fonte: Autor

Na concentração de 1 ppm e aos três dias, os tratamentos M21, M14, M22, M20, M11 e M12 de óleo de manjeriço e os tratamentos B5 e B2 de óleo de erva-baleeira apresentaram melhor inibição do crescimento micelial.

Costa et al. (2011) relacionaram a atividade antifúngica de óleos essenciais com a sua hidrofobicidade, a qual os permitem interagir com os lipídios da parede, membrana celular e da mitocôndria, alterando a permeabilidade e causando distúrbios nessas estruturas. Ibrahim et al. (2012), constataram que óleos essenciais de cravo-da-índia e manjeriço possuem eugenol e carvacrol (quimiotipos) em sua composição, e quando aplicados em meio de cultura causam alterações significativas na morfologia e no crescimento celular em hifas de *Cladosporium herbarum*. Estes eventos causaram alterações macroscópicas na colônia, assim como inibiu substancialmente o seu crescimento.

De acordo com a Tabela 2, na concentração de 10 ppm e aos dois dias após a aplicação, os óleos de manjeriço dos tratamentos M11, M21, M22, M12 e M9, os óleos de erva-baleeira dos tratamentos B5, B7, B3, B8 e B2 apresentaram o menor crescimento micelial, assim, estes óleos controlaram o crescimento inicial do fungo.

**Tabela 2** - Diâmetro médio micelial das colônias de *S. sclerotiorum* submetidos a diferentes óleos essenciais na concentração de 10 ppm, avaliados aos dois e três dias após a aplicação.

2 dias após aplicação		3 dias após aplicação	
Óleos 10 ppm	Diâmetro (cm)	Óleos 10 ppm	Diâmetro (cm)
M11 - Dark Opal	1,4 a	M22 - Osmin	4,6 a
B5 - VCUR-105	1,4 a	M14 - Genovese	4,7 a
B7 - VCUR-403	1,5 a	M12 - Edwina	4,9 a
B3 - VCUR-101	1,5 a	M11 - Dark Opal	4,9 a
B8 - VCUR-503	1,6 a	M21 - Nufar F1	5,1 a
M21 - Nufar F1	1,6 a	B5 - VCUR-105	5,3 a
M22 - Osmin	1,7 a	B8 - VCUR-503	5,5 b
B2 - VCUR-002	1,7 a	M24 - Sweet Dani	5,9 b
M12 - Edwina	1,8 a	M20 - Maria Bonita	6,1 b
M9 - Anise	1,8 a	B3 - VCUR-101	6,3 c
M14 - Genovese	2,1 b	B7 - VCUR-403	6,6 c
M13 - Elidia	2,2 b	B2 - VCUR-002	6,6 c
B4 - VCUR-104	2,2 b	M13 - Elidia	6,7 c
C1 - LA-57	2,2 b	B4 - VCUR-104	6,7 c
M24 - Sweet Dani	2,5 c	M9 - Anise	6,7 c
B6 - VCUR-302	2,6 c	C1 - LA-57	6,8 c
M17 - Italina Large Leaf	2,8 c	M16 - Green Globe	6,9 c
M10 - Ararat	3,0 c	M18 - Limoncino	7,3 d
M16 - Green Globe	3,6 d	V25 - CTE-13	7,3 d
M19 - Magical Michael	3,7 d	M19 - Magical Michael	7,4 d
M20 - Maria Bonita	3,7 d	M15 - Grecco a Palla	7,4 d
V25 - CTE-13	3,8 d	B6 - VCUR-302	7,5 d
M15 - Grecco a Palla	4,8 e	M10 - Ararat	8,0 d
M18 - Limoncino	5,0 e	M23 - Red Genovese	8,0 d
M23 - Red Genovese	5,5 f	M17 - Italina Large Leaf	8,4 d

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

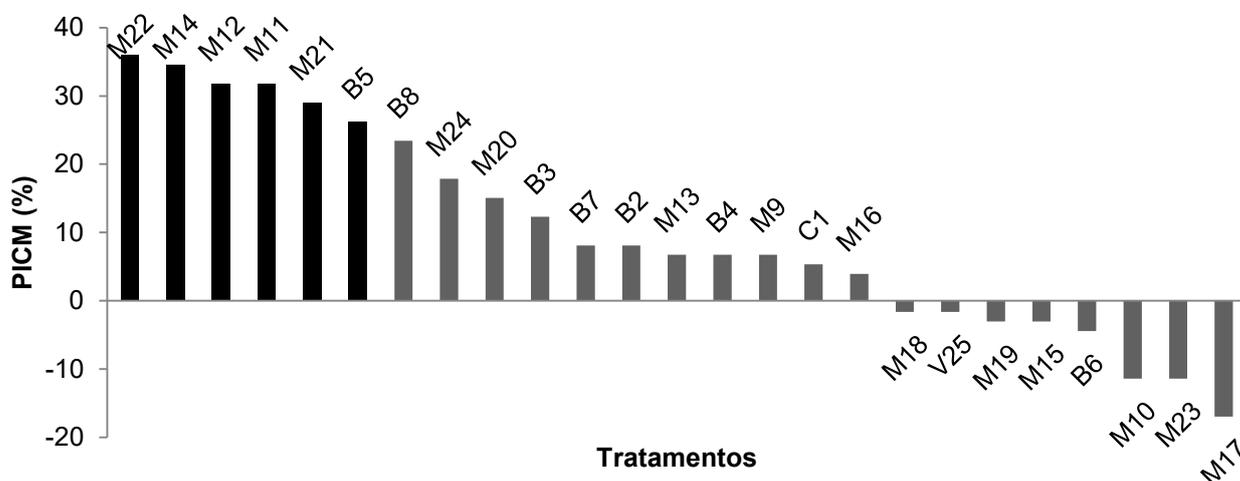
Fonte: Autor

Segundo Nizio (2015), a inibição do crescimento micelial proporcionada pelos óleos essenciais de erva baleeira pode ser devido à presença dos compostos majoritários canfeno, triciclono, *E*-cariofileno e 7-ciclododecen-1-ona,7-metil-3-metileno-10-(1-propil). Porém, outros compostos em menores concentrações podem potencializar o efeito antifúngico do óleo essencial, como também podem reduzir sua toxicidade, favorecendo a sobrevivência do fungo.

Aos três dias após a aplicação, os óleos de manjeriço dos tratamentos M22, M14, M12, M11 e M21 e o óleo de erva baleeira B5 (Tabela 2) na concentração de 10 ppm, foram os que melhor inibiram o crescimento inicial do patógeno, e

conseguiram manter seu efeito por mais tempo, porem não impediram o fungo de crescer por todo o diâmetro da placa de Petri aos quatro dias após a aplicação.

**Figura 2** – Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* aos 3 dias após a aplicação de óleos essenciais na concentração de 10 ppm.



Fonte: Autor

As melhores porcentagens de inibição foram dos óleos de manjerição, com valores acima de 30% (Figura 2). De acordo com Gomes et al. (2016), o óleo essencial de manjerição apresentou a máxima redução do crescimento micelial de *Fusarium* spp. quando utilizado na concentração de 2 mL . L<sup>-1</sup> de água destilada e esterilizada, a maior concentração utilizada em seu trabalho.

De acordo com a Tabela 3, dez tratamentos de óleo de manjerição, cinco tratamentos de óleo de erva baleeira e o óleo de erva cidreira, na concentração de 50 ppm e aos dois dias após a aplicação diferenciaram-se dos outros óleos.

**Tabela 3** - Diâmetro médio micelial das colônias de *S. sclerotiorum* submetidos a diferentes óleos essenciais na concentração de 50 ppm, avaliados aos dois e três dias após a aplicação.

2 dias após aplicação		3 dias após aplicação	
Óleos 50 ppm	Diâmetro (cm)	Óleos 50 ppm	Diâmetro (cm)
M12 - Edwina	1,4 a	M12 - Edwina	4,0 a
M11 - Dark Opal	1,5 a	M11 - Dark Opal	4,1 a
B7 - VCUR-403	1,5 a	M14 - Genovese	4,7 a
B5 - VCUR-105	1,5 a	M21 - Nufar F1	4,9 a
M14 - Genovese	1,6 a	B8 - VCUR-503	5,5 b
B2 - VCUR-002	1,8 a	B4 - VCUR-104	5,6 b
M9 - Anise	1,8 a	M22 - Osmin	5,6 b
M17 - Italina Large Leaf	1,9 a	B7 - VCUR-403	5,7 b
B3 - VCUR-101	1,9 a	M20 - Maria Bonita	5,8 b
B4 - VCUR-104	1,9 a	B2 - VCUR-002	5,9 b

M10 - Ararat	1,9 a	M10 - Ararat	6,0 b
M21 - Nufar F1	2,0 a	M17 - Italina Large Leaf	6,1 b
M13 - Elidia	2,0 a	B5 - VCUR-105	6,1 b
M19 - Magical Michael	2,1 a	M19 - Magical Michael	6,5 c
M22 - Osmin	2,3 a	M13 - Elidia	6,5 c
C1 - LA-57	2,6 a	M18 - Limoncino	6,6 c
M24 - Sweet Dani	3,1 b	V25 - CTE-13	8,6 c
B6 - VCUR-302	3,1 b	M16 - Green Globe	6,8 c
B8 - VCUR-503	3,4 b	M24 - Sweet Dani	6,9 c
V25 - CTE-13	3,6 b	M9 - Anise	7,2 d
M20 - Maria Bonita	3,7 b	B3 - VCUR-101	7,2 d
M16 - Green Globe	3,8 b	M15 - Grecco a Palla	7,5 d
M18 - Limoncino	3,9 b	B6 - VCUR-302	7,6 d
M15 - Grecco a Palla	4,9 c	C1 - LA-57	7,8 d
M23 - Red Genovese	5,6 d	M23 - Red Genovese	7,8 d

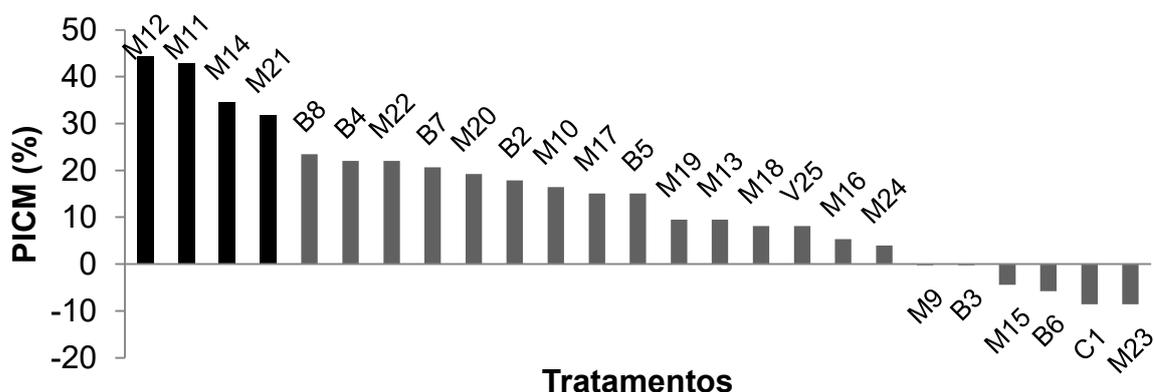
Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Fonte: Autor

A erva-cidreira é uma planta promissora para o controle de microrganismos patogênicos, uma vez que sua ação antifúngica tem sido relatada em diversos estudos (YAMAMOTO et al., 2008). O citral é o principal constituinte químico de interesse no óleo dessa planta (BARBOSA et al., 2006).

Na concentração de 50 ppm e aos 3 dias após a aplicação, quatro óleos de manjeriço destacaram-se com as melhores porcentagens de inibição do crescimento micelial, com valores superiores a 30%.

**Figura 3** – Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* aos 3 dias após a aplicação de óleos essenciais na concentração de 50 ppm.



Fonte: Autor

Stangarlin et al. (1999) evidenciaram a importância do óleo de manjeriço no controle de fitopatógenos, pois obtiveram 100% de inibição do crescimento micelial

de algumas espécies dos gêneros *Phytophthora*, *Sclerotium*, *Colletotrichum*, *Rhizoctonia* e *Alternaria*, com óleos essenciais de manjeriço, nas alíquotas de 20, 40, 100, 500 e 1.000 mL.

Anaruma et al. (2010) observaram total inibição do crescimento micelial do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, quando utilizaram 0,3 mg.mL<sup>-1</sup> do óleo essencial de erva cidreira.

De acordo com a Tabela 4, aos dois dias após a aplicação e na concentração de 100 ppm, sete tratamentos de óleo de erva baleeira, o tratamento de erva cidreira e seis tratamentos de óleo de manjeriço apresentaram o menor crescimento micelial. Aos três dias após a aplicação, um tratamento do óleo de erva baleeira e três tratamentos do óleo de manjeriço melhor inibiram o desenvolvimento do fungo.

**Tabela 4** - Diâmetro médio micelial das colônias de *S. sclerotiorum* submetidos a diferentes óleos essenciais na concentração de 100 ppm, avaliados aos dois e três dias após a aplicação.

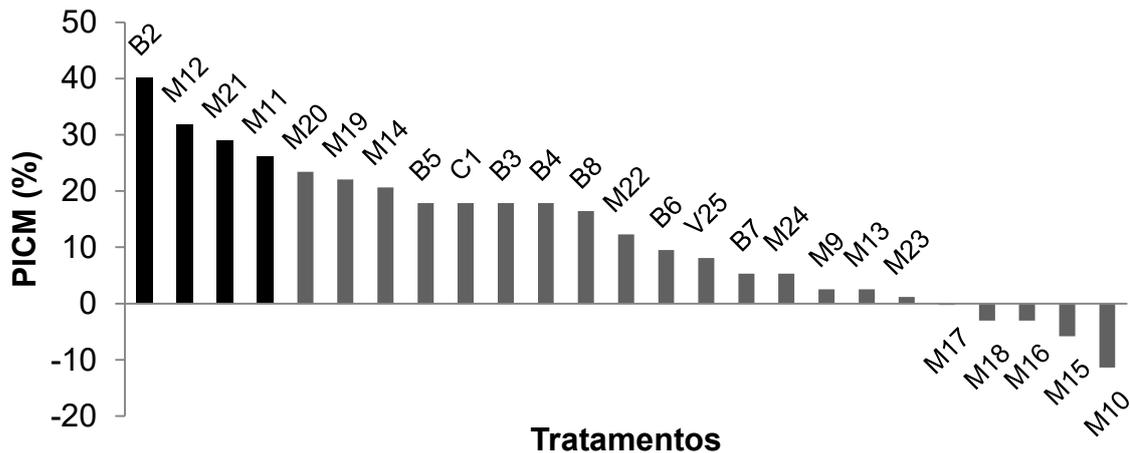
2 dias após aplicação		3 dias após aplicação	
Óleos 100 ppm	Diâmetro (cm)	Óleos 100 ppm	Diâmetro (cm)
B3 - VCUR-101	1,5 a	B2 - VCUR-002	4,3 a
B5 - VCUR-105	1,6 a	M12 - Edwina	4,9 a
C1 - LA-57	1,7 a	M21 - Nufar F1	5,1 a
B7 - VCUR-403	1,8 a	M11 - Dark Opal	5,3 a
B8 - VCUR-503	1,8 a	M20 - Maria Bonita	5,5 b
M17 - Italina Large Leaf	1,9 a	M19 - Magical Michael	5,6 b
B2 - VCUR-002	1,9 a	M14 - Genovese	5,7 b
M9 - Anise	1,9 a	B5 - VCUR-105	5,9 b
M13 - Elidia	2,0 a	C1 - LA-57	5,9 b
M11 - Dark Opal	2,0 a	B3 - VCUR-101	5,9 b
M12 - Edwina	2,0 a	B4 - VCUR-104	5,9 b
M21 - Nufar F1	2,1 a	B8 - VCUR-503	6,0 b
B6 - VCUR-302	2,2 a	M22 - Osmin	6,3 b
B4 - VCUR-104	2,3 a	B6 - VCUR-302	6,5 c
M14 - Genovese	2,7 b	V25 - CTE-13	6,6 c
M19 - Magical Michael	2,7 b	B7 - VCUR-403	6,8 c
M10 - Ararat	2,8 b	M24 - Sweet Dani	6,8 c
V25 - CTE-13	2,8 b	M9 - Anise	7,0 c
M20 - Maria Bonita	2,9 b	M13 - Elidia	7,0 c
M22 - Osmin	3,0 b	M23 - Red Genovese	7,1 c
M24 - Sweet Dani	3,1 b	M17 - Italina Large Leaf	7,2 c
M16 - Green Globe	3,6 b	M18 - Limoncino	7,4 d
M18 - Limoncino	4,9 c	M16 - Green Globe	7,4 d
M23 - Red Genovese	5,2 c	M15 - Grecco a Palla	7,6 d
M15 - Grecco a Palla	5,3 c	M10 - Ararat	8,0 d

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Fonte: Autor

O tratamento B2 de erva-baleeira e os tratamentos M12, M21 e M11 de manjeriço apresentaram as maiores PICM, na concentração de 100 ppm e aos 3 dias após a aplicação (Figura 4).

**Figura 4** – Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* aos 3 dias após a aplicação de óleos essenciais na concentração de 100 ppm.



Fonte: Autor

Brum (2012) observou que os óleos essenciais de hortelã-pimenta, erva-cidreira, citronela e capim-limão na concentração de  $1,5 \mu\text{L mL}^{-1}$  inibiram totalmente o crescimento dos fungos *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. Porém Tagami et al. (2009) testaram a fungitoxidade de extratos de erva-cidreira no desenvolvimento dos fungos *R. solani* e *S. rolfsii* e destacaram baixas taxas de inibição do crescimento. Fonseca et al. (2015), avaliaram o potencial do óleo de alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia*) e verificaram que o ele reduziu acentuadamente o crescimento dos fungos *S. sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*.

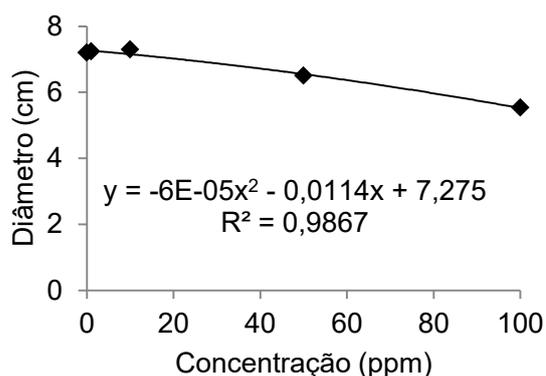
Diversos outros trabalhos tiveram resultados positivos utilizando óleos essenciais de plantas para o controle de fungos fitopatogênicos. Em seu trabalho, Brum (2012) determinou que os tratamentos com os óleos essenciais de eucalipto, hortelã-pimenta, erva-cidreira, citronela e capim-limão inibiram totalmente o crescimento micelial de *Pyricularia grisea* utilizando  $1,5 \mu\text{L mL}^{-1}$  do óleo puro, aplicado sobre o meio BDA. Cruz et al. (1998), estudando o tratamento de sementes de soja (*Glicine max*) determinaram que os extratos aquosos de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), capim limão (*C. citratus*) e *Eucaliptus citriodora* reduziram a incidência dos fungos *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp., nas sementes.

As propriedades antifúngicas e antimicrobianas dos óleos essenciais são atribuídas à presença dos compostos fenólicos e terpenóides que estão em sua composição (GILLES et al., 2010). Estes compostos causam danos nas paredes celulares de fungos fitopatogênicos e extravasar o conteúdo celular (OLIVEIRA et al., 2011) e a oxidação de lipídeos (MONTANARI et al., 2012).

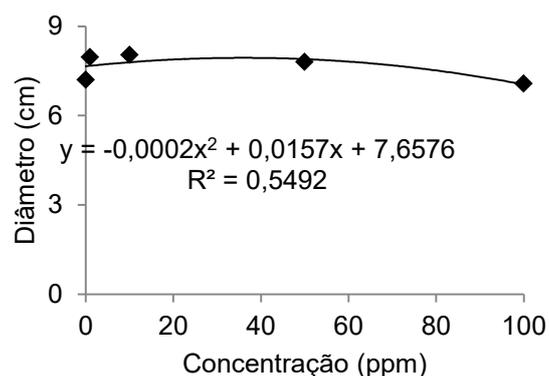
De acordo com a Figura 5, a maior inibição do crescimento micelial do fungo não foi causada pela maior concentração do óleo essencial. Isso pode ter sido causado por um fator do próprio patógeno, por apresentar grande variabilidade genética e capacidade de adaptação.

**Figura 5** – Efeito das concentrações (ppm) dos óleos essenciais de manjerição (M19 e M23), erva-cidreira (C1) e erva-baleeira (B2) sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*.

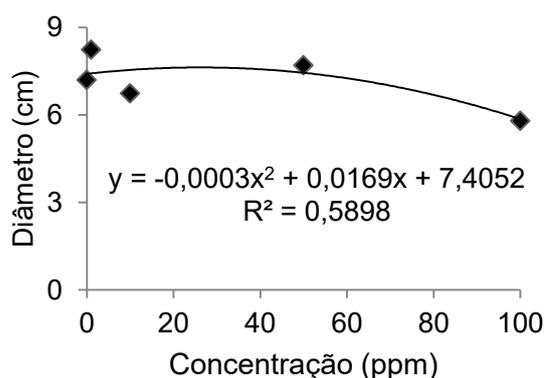
M19 - Magical Michael



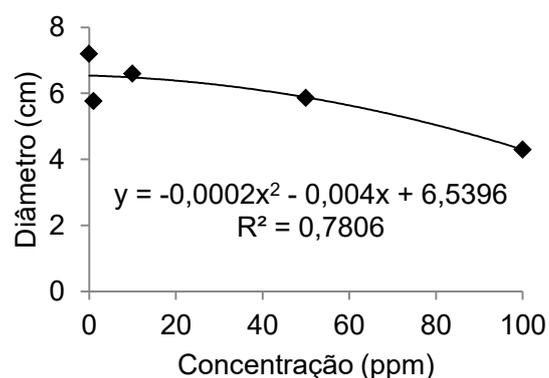
M23 - Red Genovese



C1 - LA-57



B2 - VCUR-002



Fonte: Autor

Chalfoun et al. (2004) e Pereira (2001) relataram que o tipo de substrato, a reação do fungo ao substrato e diferentes tipos de compostos presentes no meio podem interferir sobre o crescimento micelial de fungos.

Silva et al. (2014) observaram alterações degenerativas, como a lise das paredes de hifas e encolhimento dos conídios e conidióforos, causadas pela aplicação do óleo essencial de *V. curassavica* na concentração de 0,25% (v/v) em *Oidium eucalypti*.

O óleo essencial de manjeriço possui eugenol em sua composição, um fenil propeno (fenol) pouco solúvel em água, que em alta concentração pode ser tóxico e se liga fortemente ao tanino das sementes por meio de pontes de hidrogênio inibindo a sua germinação (OLIVEIRA et al., 2011). Em concentrações superiores a 25%, o eugenol causa toxicidade nas sementes (SOUZA FILHO et al., 2009).

Para as diferentes concentrações do mesmo óleo essencial realizou-se o teste de Tukey a 5% de significância para determinar qual concentração apresentou melhor efeito na inibição do crescimento micelial de *S. sclerotiorum*.

De acordo com a Tabela 5, os tratamentos B1, B2, B7, B8, M11, M16, M17, M18 e M22 apresentaram diferenças estatísticas entre as concentrações. A concentração de 1 ppm apresentou o menor controle do crescimento micelial para os tratamentos B1, B8, M11, M16, M17, M18, enquanto que, para o tratamento M22 a maior concentração (100 ppm) apresentou o menor controle. Para o tratamento B2, a concentração de 10 ppm apresentou a menor inibição do crescimento do fungo. Para o tratamento B7, a concentração de 50 ppm foi a que mais inibiu o crescimento de *S. sclerotiorum*.

**Tabela 5** - Análise estatística pelo teste de Tukey do diâmetro das colônias de *S. sclerotiorum* aos três dias após a aplicação dos diferentes óleos essenciais nas diferentes concentrações.

Óleos 3 dias após aplicação	1 ppm	10 ppm	50 ppm	100 ppm
C1 - LA-57	b	ab	ab	a
B2 - VCUR-002	ab	b	ab	a
B3 - VCUR-101	a	a	a	a
B4 - VCUR-104	a	a	a	a
B5 - VCUR-105	a	a	a	a
B6 - VCUR-302	a	a	a	a
B7 - VCUR-403	b	b	a	b
B8 - VCUR-503	b	a	a	a
M9 - Anise	a	a	a	a
M10 - Ararat	a	a	a	a
M11 - Dark Opal	b	ab	a	ab
M12 - Edwina	a	a	a	a
M13 - Elidia	a	a	a	a
M14 - Genovese	a	a	a	a
M15 - Grecco a Palla	a	a	a	a

M16 - Green Globe	b	ab	a	ab
M17 - Italina Large Leaf	b	ab	a	ab
M18 - Limoncino	b	ab	a	ab
M19 - Magical Michael	a	a	a	a
M20 - Maria Bonita	a	a	a	a
M21 - Nufar F1	a	a	a	a
M22 - Osmin	ab	a	ab	b
M23 - Red Genovese	a	a	a	a
M24 - Sweet Dani	a	a	a	a
V25 - CTE-13	a	a	a	a

As mesmas letras minúsculas na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Fonte: Autor

Os resultados obtidos demonstram que os óleos essenciais de manjeriço (*Ocimum basilicum*), erva baleeira (*Varronia curassavica*) e erva cidreira (*Lippia alba*) apresentam efeitos no crescimento micelial inicial de *S. sclerotiorum*, porem não inibiram o seu crescimento *in vitro* nas concentrações avaliadas.

## 4 CONCLUSÕES

Os óleos essenciais de erva cidreira (*Lippia alba*), de determinadas cultivares de manjeriço (*Ocimum basilicum*) e de erva baleeira (*Varronia curassavica*) apresentaram porcentagens de inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* superiores a 30% nas concentrações avaliadas.

O óleo essencial de velandinho (*Croton tetradenius*) não apresentou efeito significativo na inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* nas concentrações estudadas, em comparação com os outros óleos avaliados.

Para o crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*, não houve diferenças estatísticas entre as concentrações de 1, 10, 50 e 100 ppm para grande parte dos óleos essenciais estudados.

Os óleos essenciais de manjeriço das cultivares Dark Opal (M11), Edwina (M12), Genovese (M14) e Nufar F1 (M21) na concentração de 50 ppm foram os que melhor inibiram o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*.

Estes resultados demonstram que são necessários mais estudos para determinar a concentração adequada destes óleos para a maior inibição do crescimento micelial do fungo.

## REFERÊNCIAS

ANARUMA, N. D.; SCHMIDT, F. L.; DUARTE, M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; DELARMELINA, C.; BENATO, E. A.; SATORATTO, A. Control of *Colletotrichum gloeosporioides* (penz.) Sacc. in yellow passion fruit using *Cymbopogon citratus* essential oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, p. 66-73, 2010.

BALBI-PENA, M. I.; BECKER, A.; STANGARLIN, J. R.; FRANZENER, G.; LOPES, M. C.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Cúrcuma longa* e curcumina – I. Avaliação *in vitro*. **Fitopatologia Brasileira**, 1: 10- 14, 2006.

BARBOSA, F. F.; BARBOSA, L. C. A.; MELO, E. C.; BOTELHO, F. M.; SANTOS, R. H. S. Influência da temperatura do ar de secagem sobre o teor e a composição química do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1221-1225, 2006.

BRUM, R. B. C. S. Efeito de óleos essenciais no controle de fungos fitopatogênicos. 2012. 135p. **Tese (Mestrado em Produção Vegetal)** - Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2012.

CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. Métodos alternativos de controle fitossanitário. **Jaguaríuna: Embrapa Meio Ambiente**. Florianópolis, Brasil, p.143-157, 2003

CHALFOUN, S. M.; PEREIRA, M. C.; RESENDE, M. L. V.; ANGÉLICO, C. L.; SILVA, R. A. Effect of powdered spice treatments growth, sporulation and production of aflatoxin by toxigenic fungi. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 4, p. 856-862, jul./ago, 2004.

COSTA, A.R.T.; AMARAL, M. F. Z. J.; MARTINS, P. M.; PAULA, J. A. M.; FIUZA, T.S. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.13, n.2, p.240-245, 2011.

CRUZ, M.E.S.; BATISTA, M.A.; IMOVE, M.H. Eficiência das plantas medicinais *Ocimum basilium*, *Lavanda officinalis*, *Cymbopogon citratus* e *Eucaliptus citriodora* no controle de fungos de sementes. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO

BRASIL, 15., 1998. São Paulo. Anais. São Paulo: **Sociedade Brasileira de Plantas Mediciniais**, 1998.

FERREIRA, F. A. **Sistema SISVAR para análises estatísticas**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2000. Disponível em: <<http://www.dex.ufla.br/~danielfff/softwarees.htm>. Acesso em: 31 out. 2019.

FONSECA, M.C.M., LEHNER, M.S., GONÇALVES, M.G., PAULA JÚNIOR, T.J., SILVA, A.F., BONFIM, F.P.G., & PRADO, A.L. Potencial de óleos essenciais de plantas medicinais no controle de fitopatógenos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 17(1), 45-50, 2015.

FRAGOSO, D.B., GUEDES, R.N.C., PICANÇO, M.C., ZAMBOLIM, L. Inseticide use and organophosphate resistance in the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 92, p. 203-212, 2002.

GARCIA, R.A.; JULIATTI, F.C.; BARBOSA, K.A.G.; CASSEMIRO, T.A. Atividade antifúngica de óleos e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, v. 28, p. 48-57, 2012.

GILLES, M.; ZHAO, J.; AN, M.; AGBOOLA, S. Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian *Eucalyptus* species. **Food Chemistry**, v. 119, p. 731-737, 2010.

GOMES, R.S.S.; NUNES, M.C.; NASCIMENTO, L.C.; SOUZA, J.O.; PORCINO, M.M. Eficiência de óleos essenciais na qualidade sanitária e fisiológica em sementes de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.18, n.1, supl. I, p.279-287, 2016.

IBRAHIM, L.et al. Composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial e seus componentes do libanês *Syriacum origanum* L. **Journal of Essential Oil Research**, v.24, n.4, p.339-345, 2012.

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

LEITE, R. M. V. B. de C. Ocorrência de doenças causadas por *Sclerotinia sclerotiorum* em girassol e soja. **Londrina: Embrapa Soja**, 2005.

MMA (Ministério do Meio Ambiente). **Informativo MMA**. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/ascom/imprensa/marco2000/informma15.html>, , 2000

MONTANARI, R. M., BARBOSA, L. C. A., DEMUNER, A. J., SILVA, C. J., ANDRADE, N. J., ISMAIL, F. M. D., BARBOSA, M. C. A. Exposure to Anacardiaceae volatile oils and their constituents induces lipid peroxidation within food-borne bacteria cells. **Molecules** 16, 9728-9740, 2012.

NIZIO, D. A. DE C. Estudo fitoquímico e atividades antifúngica e antiprotozoária do óleo essencial de genótipos de erva-baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.). **Tese (doutorado em Biotecnologia)**– Rede Nordeste de Biotecnologia - RENORBIO, Universidade Federal de Sergipe, 2015.

OLIVEIRA, D.M., LUCHINI, A.C., SEITO, L.N., GOMES, J.C., CRESPO-LÓPEZ, M.E., DI STASI, L.C. *Cordia verbenacea* and secretion of mast cells in different animal species. **J. Ethnopharmacol**, 463–468, 2011.

OLIVEIRA, J.A. et al. Secagem e armazenamento de sementes de sorgo com alto e baixo teor de tanino. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.4 p.699-710, 2011.

OLIVEIRA, R.F.; PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Papilla formation and peroxidase activity in *Mimosa scabrella* hypocotyls inoculated with the nonpathogen *Colletotrichum graminicola*. **Fitopatologia Brasileira**, v.22, n.2, p.195-197, 2010.

PEREIRA, M. C. Efeito da adição de condimentos no controle de microrganismos, na conservação de produtos de panificação e na inibição de metabólitos produzidos por fungos associados ao café. **Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)** Universidade Federal de Lavras, Lavras, 104 p, 2001.

PEREIRA, M. C.; VILELA, G. R.; COSTA, L. M. A. S. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciencia Agrotecnológica**, 731-733, 2006.

PEREIRA, R.B. Óleos essenciais no manejo da ferrugem e cercosporiose do cafeeiro. 2008. 105p. **Tese (Doutorado em Fitopatologia)** – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

REIS, M.S. Manejo sustentado de plantas medicinais em ecossistemas tropicais. In: DI STASI, L. C. (Org.). Plantas Medicinais: arte e ciência. **Um guia de estudo multidisciplinar**. São Paulo: Unes, p. 199-215, 1996.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R. Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L.S. et al. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: Fealq, p.125-32, 2005.

SHELDON, JW.; BALICK, MJ.; LAIRD, SA. Medicinal plants: can utilization and conservation coexist? **New York: The New York Botanical Garden**, 104p, 1997.

SILVA, A.C., SOUZA, P.E., RESENDE, M.L.V., SILVA JR., M.B., RIBEIRO JR., P.M., ZEVIANI, W.M. Local and systemic control of powdery mildew in eucalyptus using essential oils and decoctions from traditional Brazilian medicinal plants. **Forest Pathol**, 145–153, 2014.

SILVA, E. O. Termoterapia e óleos essenciais no controle de *Pseudomonas syringae* pv. Tomato em sementes de tomate. 57 f. **Tese (Doutorado)** - Curso de Agronomia, Faculdade de Ciências Agronômicas. Unesp Botucatu, 2018.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. Óleos voláteis. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: UFRGS, p.467-495, 2004.

SOUZA FILHO, A.P.S. et al. Efeitos potencialmente alelopáticos dos óleos essenciais de *Piper hispidinervium* C. DC. e *Pogostemon heyneanus* Benth sobre plantas daninhas. **Acta Amazonica**, v.39, n.2, p.389-395, 2009.

STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; NOZAKI, M. H. Plantas medicinais e o controle alternativo de fitopatogenos. **Biotechnologia, Ciencia & Desenvolvimento**, 11: 16-21, 1999.

TAKATSUKA, F. S.; SILVA, I. D.; OLIVEIRA, M. F.; CZEPAK, C.; OLIVEIRA, C. M. A.; CUNHA, M. G. Efeito do óleo essencial de açafrão (*Curcuma longa*) sobre o desenvolvimento micelial de fungos. **36º Congresso Brasileiro de Fitopatologia**, Uberlândia, Brasil, v.28, p.361, 2003.

TAGAMI, O. K.; GASPARIN, M. D. G.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; TOLENTINO JÚNIOR, J. B.; MORAES, L. M.; STANGARLIN, J. R. Fungitoxidade de *Bidens pilosa*, *Thymus vulgaris*, *Lippia alba* e *Rosmarinus officinalis* no desenvolvimento in vitro de fungos fitopatogênicos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 285-294, 2009.

TALAMINI, V., STADNIK, M. J. Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas. In: STADNIK, M. J.; TALAMINI, V.(Eds). **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Editora UFSC, 2004.

VENZON, M. et al. **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: EPAMIG, UFV, 206p, 2006.

VIGO-SCHULTZ, S. Avaliação da eficácia da tintura etanólica de guaco (*Mikania glomerata*) no controle da podridão negra (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) em couve-flor. **Semina: Ciências Agrárias**, v.27, n 4, p 515-524, 2006.

YAMAMOTO, P. Y.; COLOMBO, C. A.; FILHO, J. A. A.; LOURENÇÃO, A. L.; MARQUES, M. O. M.; MORAIS, G. D. S.; CHIORATO, A. F.; MARTINS, A. L. M.; SIQUEIRA, W. J. Performance of ginger grass (*Lippia alba*) for traits related to the production of essential oil. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, n. 5, p. 481-489, 2008.