



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SISTEMAS  
AGROINDUSTRIAIS**

**ANDRESSA LACERDA NÓBREGA UGULINO**

**INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Macrophomina  
phaseolina* (Tassi.). Goid POR ÓLEOS VEGETAIS**

**POMBAL – PB  
2017**

**ANDRESSA LACERDA NÓBREGA UGULINO**

**INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Macrophomina*  
*phaseolina* (Tassi.). Goid POR ÓLEOS VEGETAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Sistemas Agroindustriais PPGSA, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre da Universidade Federal de Campina Grande UFCG/CCTA

Orientadores: Prof. D. Sc. Antonio Francisco de Mendonça Júnior  
Prof. D.Sc. Patrício Borges Maracajá

**POMBAL – PB  
2017**

ANDRESSA LACERDA NÓBREGA UGULINO

**INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Macrophomina phaseolina* (Tassi.). Goid POR ÓLEOS VEGETAIS**

**APROVADA EM:** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

---

Orientador – Prof. D. Sc. Antônio Francisco de Mendonça Júnior  
UAGRA – CCTA – UFCG

---

Orientador: Prof. DSc. Patrício Borges Maracajá  
UAGRA – CCTA – UFCG – PB

---

D.Sc. Tiago Augusto Lima Cardoso  
UFCG

---

D.Sc. Ana Paula Medeiros dos Santos Rodrigues  
UFERSA

## **DEDICATÓRIA**

A Deus, meu senhor e salvador, a ele toda honra e toda glória! Por sua fidelidade, seu amor e sua providência.

Ao meu esposo Luis Augusto De Medeiros Ugulino filho, e meu filho Luis Augusto Neto, por serem meu motivo, minha base, minha fortaleza, meu tudo.

Aos meus pais Antônio Nóbrega Almeida e Rosa Maria Lacerda Nóbrega, pela incansável busca em me fazer uma pessoa melhor, por me incentivarem a buscar cada dia crescer através do conhecimento e da educação, ao meu irmão André Lacerda Nóbrega.

Aos meus sogros, Luis e Francisca, pelo amor e força de todos os dias, os meus cunhados, irmãos que Deus me deu.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pelos seus grandes sonhos para a minha vida, por ser meu socorro bem presente, por tudo e todos que colocou em meu caminho para que este sonho fosse possível.

Ao Professor Patrício Borges Maracajá, meu mentor, orientador, amigo, tantas vezes meu pai, por ter me recebido em sua sala, em seu abraço e em seu coração. Pelas palavras de apoio sempre prontas, por ser o abraço acolhedor que tantas vezes precisei, por acreditar em mim, a ele a minha eterna gratidão.

Ao meu orientador, o professor Antônio Francisco de Mendonça Junior, por cumprir com excelência o papel de orientador e amigo, pela paciência, dedicação, por sempre acreditar em mim, pela confiança, pela presença constante em todos os momentos que precisei, por não medir esforços para que eu chegasse até aqui.

À professora Ana Paula Medeiros dos Santos Rodrigues, pela sua importante contribuição, compreensão e ensinamentos a mim prestados.

À professora Rosilene Agra (Rosinha), sempre presente desde que iniciei esta jornada.

Aos meus amigos Anderson Bruno, Aléx Béu e Leonardo Prado, pela importante contribuição desde o início, pela amizade construída.

Ao professor Fernandes Antônio de Almeida por ceder o laboratório de fitopatologia para que pudéssemos realizar este e outros estudos;

Ao técnico do laboratório de Fitopatologia do CCTA, Tiago Cardoso, pelo grande apoio e contribuição com este trabalho.

## RESUMO

O fungo *Macrophomina phaseolina* (Tassi.). Goid é o agente etiológico de uma das principais doenças na cultura do feijão-caupi, vulgarmente conhecida como podridão cinzenta do caule. Em decorrência da falta de produtos fitossanitários registrados para o controle desta doença um aumento na busca por métodos de controle alternativo é cada vez mais comum. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de óleos essenciais sobre o crescimento micelial do fungo *M. phaseolina*. Os óleos testados foram de hortelã (*Mentha* sp.), eucalipto (*Eucalyptus* spp.), copaíba (*Copaifera* sp.) e alecrim-da-chapada (*Lippia gracilis*), nas concentrações 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0%. Os óleos foram incorporados ao meio de cultura do tipo BDA e posteriormente vertidos em placas de Petri de 90x15mm, após a solidificação do meio, discos de 8mm contendo o micélio do patógeno foram repicados para as placas com os respectivos tratamentos. O experimento foi conduzido no delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) em arranjo fatorial 4 x 4 + 1 +1, sendo dezesseis tratamentos mais uma testemunha negativa e uma testemunha positiva que constou da aplicação suplementar no meio (BDA) do fungicida Sportak 450 EC (Procloraz), e cinco repetições, totalizando 90 parcelas experimentais. Posteriormente todas as placas foram transferidas para incubadora do tipo B.O.D. (biochemical oxygen demand) a  $27 \pm 2$  °C. Foram realizadas medições diárias do diâmetro da colônia em dois sentidos perpendiculares até que tomasse toda a superfície do meio de cultura de uma das placas. Os dados obtidos foram interpretados por meio de análise de variância não paramétrica e as médias foram comparadas pelo teste de Kruskal-wallis, a 5% de probabilidade de erro e Scott Knott a 5% de probabilidade nos casos em que existiram diferenças significativas e normalidade dos dados. Os óleos essenciais de hortelã e alecrim-da-chapada apresentaram melhores resultados quanto a inibição do crescimento micelial, enquanto que os óleos de eucalipto e copaíba apesar de potencialmente promissores, apresentaram inibição intermediária do crescimento micelial do fungo.

**Palavras-chave:** *Eucalyptus* sp., *Mentha* sp., *Copaifera* sp., *Lippia gracilis*

## ABSTRACT

*Macrophomina phaseolina* (Tassi.) Goid is the etiological agent of one of the major diseases in cowpea bean crop, commonly known as gray rot stem. Due to the lack of registered phytosanitary products to control this disease, the search for alternative control methods is increasingly common. The objective of this study was to evaluate the effect of essential oils on the mycelial growth of *M. phaseolina*. The oils tested were *Mentha* sp., *Eucalyptus* spp., *Copaifera* sp., and *Lippia gracilis* at concentrations of 0.4; 0.6; 0.8 and 1.0%. The work was conducted in Phytopathology Laboratory of the Federal University of Campina Grande. Daily measurements of the colony diameter were performed in two perpendicular directions until it filled the entire surface of the culture medium of one of the plates. The experiment was conducted in a completely randomized experimental design in a factorial arrangement 4 x 4 + 1+1, with sixteen treatments plus one negative control and one positive control, which consisted of the supplemental application in the medium (BDA) of the fungicide Sportak 450 EC (Procloraz), and five replications, totaling 90 experimental plots. The data were interpreted through non-parametric analysis of variance and the means were compared by the Kruskal-wallis test, with a 5% probability of error and Scott Knott at 5% probability in cases where there were significant differences and data normality. The *Mentha* sp. essential oil and *Lippia gracilis* showed better results in inhibiting mycelial growth, while the *Eucalyptus* essential oil and *Copaifera*, although potentially promising, showed intermediate inhibition of fungal mycelial growth.

**Keywords:** *Eucalyptus* sp., *Mentha* sp., *Copaifera* sp., *Lippia gracilis*

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* sob diferentes concentrações de óleos essenciais (hortelã, eucalipto, copaíba e alecrim da chapada) e o fungicida. Pombal, PB, UFCG, 24 2017.....

**Tabela 2.** Quadro resumo da análise de variância para a variável porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC), UFCG, Pombal-PB, 2017..... 27

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Comparação do crescimento micelial entre testemunhas e óleos essenciais para inibição do fungo. Pombal, UFCG, 2016. A<sup>1,2</sup>: Testemunha negativa (Sem adição de óleo) e testemunha positiva (750 µL L<sup>-1</sup> de Sportak 450 EC); B, C, D e E: Óleos de hortelã, eucalipto, copaíba e alecrim-da-chapada, respectivamente. 1, 2, 3 e 4: Doses de 0,4%, 0,6%, 0,8% e 1,0%, respectivamente.....

25

**Figura 2.** Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* em função de diferentes concentrações dos óleos essenciais de hortelã, eucalipto e copaíba.....

28

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	13
2.1 Cultura do feijão-caupi [ <i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.] .....	13
2.2 Podridão cinzenta do caule no feijão-caupi .....	14
2.3 <i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi.) Goid .....	15
2.4 Óleos essenciais no controle de doenças .....	15
2.4.1 Óleo essencial de hortelã ( <i>Mentha sp.</i> ) .....	16
2.4.2 Óleo essencial de eucalipto ( <i>Eucalyptus spp.</i> ) .....	17
2.4.3 Óleo essencial de copaíba ( <i>Copaifera sp.</i> ) .....	18
2.4.4 Óleo essencial de Alecrim-da-Chapada ( <i>Lippia gracilis</i> ) .....	20
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	21
3.1. Caracterização da área experimental .....	21
3.2. Tratamentos e delineamento experimental .....	21
3.3. Instalação e condução do experimento .....	21
3.4. Obtenção dos Óleos Essenciais.....	23
3.5. Análise estatística .....	22
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	23
<b>5. CONCLUSÕES</b> .....	30
<b>6. REFERÊNCIAS</b> .....	31

## 1. INTRODUÇÃO

O feijão-caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp., é uma cultura importante para as populações de países subdesenvolvidos, principalmente pela significativa contribuição socioeconômica como suprimento alimentar e fixação de mão de obra no campo (ROCHA et al., 2009).

O Brasil é um dos países de maior relevância quando se trata de produção de grãos. A produção de feijão-caupi concentra-se principalmente nas regiões Norte e Nordeste, sendo considerada uma das principais fontes proteicas da alimentação humana, componente essencial da dieta alimentar e um importante gerador de emprego e renda (EMBRAPA MEIO NORTE, 2016); AZEVEDO et al., 2008).

Apesar da representatividade da cultura para o país, as doenças estão entre os fatores mais limitantes à sua produção, sendo responsáveis por perdas qualitativas e quantitativas (RIOS, 1988). A existência de variedades resistentes a doenças ainda é insuficiente e o controle químico não possui grande eficiência, haja vista a reduzida quantidade de produtos registrados para a cultura. Em virtude das condições climáticas brasileiras, perdas ocasionadas por doenças fúngicas podem alcançar um patamar elevado, principalmente onde se emprega baixa tecnologia fitossanitária no cultivo desta leguminosa, como é o caso da região Nordeste do país (POLTRONIER et al., 1994).

Uma das principais doenças que acometem o feijão-caupi é a podridão cinzenta do caule, causada pelo fungo *Macrophomina phaseolina*, um dos principais patógenos desta espécie (PEDROSO, 2012). Nas condições do Nordeste brasileiro, representa uma das mais importantes doenças fúngicas (ARAÚJO, 1985; ATHAYDE SOBRINHO et al., 1998; ATHAYDE SOBRINHO et al., 2000; RODRIGUES et al., 1997), causando morte de sementes e plântulas, cancro e lesões cinzentas no caule, sobretudo em condições de alta temperatura e deficiência hídrica (PIO-RIBEIRO; ASSIS FILHO, 1997).

O controle químico deste patógeno é comumente empregado, porém apresenta uma série de problemas como o surgimento de populações resistentes em decorrência do uso contínuo e indiscriminado de agrotóxicos, e elevada toxicidade para a saúde humana e o meio ambiente. A utilização irregular destes produtos tem ocasionado inúmeros problemas que vão desde desequilíbrios ambientais, contaminação de alimentos e intoxicação de seres humanos. Em decorrência destas práticas, a adoção de técnicas alternativas de controle de fitopatógenos se faz relevante, tanto para a saúde humana quanto para o meio ambiente. Dentre as técnicas,

o uso de produtos naturais para o controle de patógenos tem se tornado uma realidade (FONSECA et al., 2015).

A utilização de óleos essenciais tem tomado espaço cada vez maior, demonstrando-se como uma alternativa no controle de doenças e pragas (OOTANI, 2013). Estes compostos são misturas extremamente complexas e que podem conter até 60 componentes distribuídos em concentrações diversas. Geralmente caracterizam-se por possuírem dois ou três componentes em maior concentração quando comparado com outros presentes em sua constituição. Os mesmos apresentam importante papel na proteção de plantas contra bactérias, fungos e insetos causadores de doenças (BAKKALI, 2008). O sucesso destes óleos no controle de fitopatógenos está relacionado à sua capacidade de dissolver-se em meio lipídico, isto permite que haja uma harmonia entre o óleo e os componentes lipídicos presentes nas células dos patógenos, causando modificações na estrutura da mesma (BRUM, 2012).

Segundo Silva et al. (2012), avaliando a atividade antifúngica de extratos vegetais de cravo-da-índia, alho, pimenta e neem, observaram inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* e *Pyricularia oryzae*. Dias-Arieira et al. (2010), estudando a atividade antifúngica do óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* e *Azadirachta indica* sobre *Colletotrichum acutatum* em morangueiro observaram que o crescimento micelial foi inibido de forma significativa para ambos os óleos testados. Freire (2006), utilizando óleo essencial de hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.) constatou inibição no crescimento micelial de diferentes fungos.

Diante do exposto o presente trabalho teve o objetivo de analisar *in vitro* o efeito fungitóxico de óleos essenciais de Eucalipto (*Eucalyptus*), Hortelã (*Mentha sp*) Copaíba (*copaifera* sp.) e Alecrim-da-chapada (*lippia gracilis*) sobre o crescimento inicial de *Macrophomina phaseolina* (Tassi.). Goid.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Cultura do feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]

O feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] é uma espécie dicotiledônia pertencente à família *Fabaceae*, que tem como centro de origem a África, sendo disseminada no Brasil em meados do século XVI através de colonizadores portugueses no estado da Bahia (FREIRE FILHO et al., 2011).

A espécie possui plantas de porte variado, ereto, semiereto ou trepador. Suas folhas são trifoliadas e as flores formam pequenos grupos semelhantes a cachos, com poucas flores, que partem da base do pecíolo das folhas. Suas flores podem apresentar-se em diversas cores como, brancas, amarelas e violetas. Abrem-se apenas nas primeiras horas da manhã, não concedendo que a polinização por parte de insetos ocorra continuamente. Cada flor exibe cinco estames. As vagens são lisas, lineares e cilíndricas, com sementes numerosas. Estas se mostram de cor branca e amarelada com o hilo com uma horla castanha ou negra, que permite naturalmente a sua identificação. Com a maturação das vagens (legumes), estas secam abrindo-se facilmente por meio de uma sutura, permitindo a extração das sementes (LIBERATO, 1999).

Conhecido vulgarmente como feijão de corda, feijão fradinho e feijão macaçar, é largamente produzido no Brasil, principalmente nas regiões Norte e Nordeste, tanto por agricultores familiares quanto donos de empresas. Isto pode ser explicado pelo seu conteúdo de proteína e sais minerais essenciais à saúde de seus consumidores, além de apresentar um ciclo relativamente curto e ótima tolerância à escassez de água, característica destas regiões, causada principalmente pela baixa precipitação pluviométrica anual (FROTA; PEREIRA, 2000; FREIRE FILHO, 2011).

Sua produção tem gerado mais de um milhão de empregos anualmente, garantindo segurança alimentar para cerca de trinta milhões de pessoas e com um retorno financeiro anual de mais de seiscentos milhões de reais (FREIRE FILHO et al., 2011). Embora se tenha uma expansão crescente dessa cultura no país, o uso de tecnologia nas práticas de manejo ainda é baixo, o que se traduz em baixos índices de rendimento e qualidade do produto.

De acordo com dados da FAO (2015), a produção mundial de feijão foi de cerca de 5,6 milhões de toneladas, produzidas numa área de 12,5 milhões de hectares. Porém, é provável que os dados estejam subestimados pelo fato de países como o Brasil e a Índia não separarem

estatisticamente os dados de feijão-caupi e feijão comum. Segundo estimativas de produção da Embrapa Arroz e Feijão, em 2014 a produção foi de 482.665 toneladas, colhidas numa área de 1.202.491 hectares, sendo os estados do Ceará, Piauí e Pernambuco os principais produtores do Nordeste, com uma produção de 107.291; 55.278 e 52.406 toneladas respectivamente (EMBRAPA, 2014).

Apesar da tamanha representatividade no cenário produtivo do país, assim como em todas as culturas exploradas comercialmente, o feijão-caupi também é abalado por perdas decorrentes de doenças responsáveis por reduções em sua produtividade (NORONHA et al., 2010).

## **2.2. Podridão cinzenta do caule no Feijão-caupi**

A podridão cinzenta do caule é causada pelo fungo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid, e é uma das principais doenças que acometem esta espécie (MENEZES et al., 2013). Ocorre em diversos países da América e África, acometendo o caule e a raiz das plantas causando grandes perdas na lavoura (ABAWI; PASTOR-CORRALES, 1997).

Foi observada no Brasil pela primeira vez em 1935, em feijoeiro comum, na cidade de Campinas, São Paulo (COELHO NETO, 1994). Está presente em todas as áreas produtoras (ASSIS FILHO, 1997; ATHAYDE SOBRINHO et al., 1998; ATHAYDE SOBRINHO et al., 2000; PONTE, 1996; PIO-RIBEIRO; RIOS, 1988) e, segundo Magalhães et al. (1982) e Pio-Ribeiro; Assis Filho (1997), torna-se mais agressiva quando as condições ambientes mostram-se secas e com temperaturas elevadas, como o caso da região nordeste do país.

Segundo Ponte (1996) e Rodrigues et al. (1997), o desenvolvimento da doença na planta pode ocorrer em várias etapas de crescimento. Nas plântulas as lesões se apresentam nos cotilédones, podendo vir a causar tombamento da planta em pré e pós-emergência, já na planta adulta, os sintomas podem se apresentar na forma de lesões necróticas na região do colo, clorose, murcha, queda precoce das folhas e morte da planta (DINGRA; SINCLAIR, 1978).

Nas condições de Nordeste brasileiro, a doença atinge primeiro o colo da planta, e posteriormente se propaga para a raiz pivotante, partes acima do caule e ramos, onde verifica-se o aparecimento de lesões acinzentadas, difusas, com aspecto úmido e que posteriormente evoluem, causando podridão dos tecidos da planta. Em decorrência disto ocorre clorose generalizada, murcha, seca e morte da planta afetada (ATHAYDE SOBRINHO, 2000).

### **2.3. *Macrophomina phaseolina* (Tassi.). Goid**

A *Macrophomina phaseolina* (Tassi.). Goid é um fungo que tem o solo como ambiente natural de sobrevivência, e que também pode alcançar outras áreas utilizando sementes como hospedeiro. Quando isto ocorre, há o surgimento de damping-off em pré-emergência da planta, ocasionando perdas na lavoura (MENEZES et al., 2013). *M. phaseolina* apresenta ampla gama de hospedeiros, sendo patogênico em mais de 680 espécies botânicas (FARR et al., 2008).

O patógeno pode atacar diversas espécies cultivadas de valor comercial, dentre algumas das principais encontram-se Algodão (*Gossypium hirsutum*, L.), Batata-doce (*Ipomoea batatas*, L.), Feijão caupi (*Vigna unguiculata*, L.), Feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.), Melão (*Cucumis melo*, L.), Melancia (*Citrullus lanatus*), Milho (*Zea mays*) e Soja (*Glycine max*, L.) (MICHEREFF et al., 2005).

Este fungo tem uma elevada capacidade de sobrevivência, mesmo quando submetido a condições adversas, a explicação para este problema está na sua elevada capacidade saprofítica juntamente com o desenvolvimento de microescleródios, que são estruturas de resistência capazes de permanecer no solo por anos. *M. phaseolina* ataca as raízes das plantas causando sérios problemas, como podridão seca da raiz, podridão de carvão, murchamento da parte aérea e tombamento (GUPTA et al., 2012).

### **2.4. Óleos essenciais no controle de doenças**

Definem-se óleos essenciais como sendo misturas complexas de óleos voláteis e que possuem substâncias químicas variadas e de funções diversas. Estes óleos podem estar presentes em diversas partes da planta, como flores, folhas, frutos, sementes, caule e raízes. Basicamente a obtenção destes compostos pode ser de duas formas, por destilação a vapor ou ainda por hidrodestilação. O material que contém o óleo é exposto a uma corrente de vapor, quando isso ocorre à mistura de vapores de óleo e água separam-se em camadas após se condensar, por diferencial de densidade (KOKETSU; GONÇALVES, 1991).

Sabe-se que os produtos sintéticos utilizados para controle de patógenos, quando usados em excesso e continuamente causam sérios danos à saúde do homem e ao ambiente como um todo. Devido a esta problemática, tem se estudado cada vez mais sobre formas

alternativas de controle desses fitopatógenos, visando diminuir e por vezes até evitar totalmente o uso de produtos químicos (ALMEIDA et al., 2010). Além disso, o uso contínuo e indiscriminado destes produtos faz com que os microrganismos, desenvolvam resistência a seus princípios ativos, deixando a relação custo benefício abalada (KORDALI et al., 2009).

É com base nesta premissa que os óleos essenciais, conhecidos há décadas por suas propriedades medicinais e utilizados largamente na indústria de perfumes, alimentos, e de fármacos, mostram-se também eficientes no controle de pragas. Porém diversas pesquisas já feitas ao redor do mundo mostram que esta característica não se restringe apenas a pragas, mas também apresenta ações fungicidas contra patógenos importantes conhecidos (ISMAN, 2000).

Segundo Batish et al., (2008), em um estudo realizado sobre o uso do óleo essencial de *Eucalyptus* como pesticida, constataram que o mesmo possui atividade biológica contra fungos, insetos e ácaros. Kaur et al., (2010), utilizando óleo de *Artemisia* verificou sua eficácia como bio herbicida no controle de plantas daninhas. Sharma e Tripathi, (2008), trabalhando com óleo essencial de *Citrus sinensis* (L.) no controle de *Aspergillus niger* (L.), obtiveram um resultado de completa inibição ao utilizar a concentração de 3,0 mg mL<sup>-1</sup>, 7 dias após a incubação em meio de cultura, e considerou esta concentração como sendo de ação fungicida.

#### **2.4.1. Óleo essencial de hortelã (*Mentha sp.*)**

Tendo como berço de origem o Norte da Ásia e Europa, a hortelã (*Mentha sp.*), é uma espécie da família das *Lamiaceae*. É uma planta perene, rasteira, com raízes do tipo rizoma lenhoso, folhas opostas e flores pequenas que variam do lilás ao rosa (VAZ e JORGE, 2006).

As propriedades antimicrobianas de óleos essenciais desta espécie foram e ainda são estudadas e comprovadas, e isto pode ser explicado pela sua composição química que inclui, entre outros componentes a mentona, óxido de piperitona, carvona e linalol. Sendo o mentol um dos principais componentes responsáveis pela atividade antimicrobiana destas espécies (HUSSAIN et al., 2010; NASCIMENTO et al., 2013).

Este tipo de composto apresenta uma extensa gama de vantagens quando comparados com produtos sintéticos quimicamente formulados, no controle de fitopatógenos. Primeiramente a toxicidade é muito inferior aos produtos convencionais, além do fato de sofrerem biodegradação acelerada. Devido à diversidade de substâncias que contém, possuem

modos de ação diversos, isto é importante, pois diminui a probabilidade do surgimento de populações de patógenos resistentes (COIMBRA et al., 2006).

Diniz et al., (2008), analisando a bioatividade do óleo essencial de *Mentha arvensis* L. no controle de fungos fitopatogênicos demonstraram que houve atividade inibitória sobre os fungos *Aspergillus* sp., *Penicillium rubrum*, *Sclerotinia* sp., *Fusarium moniliforme* cepa UEM e *Corynespora cassiicola*, quando estes foram expostos a concentração de 100 ml do mesmo.

Sousa (2012), avaliando o crescimento micelial do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* em presença de dez óleos essenciais em diferentes concentrações, constatou que os óleos de copaíba, neem, hortelã e pau rosa, apresentaram os melhores resultados quanto à inibição do crescimento do fungo em todas as cinco concentrações utilizadas.

#### **2.4.2. Óleo essencial de eucalipto (*Eucalyptus* spp.)**

Pertencente ao gênero *Eucalyptus*, o Eucalipto como é vulgarmente conhecido, pertence à família das *Myrtaceae* e tem como centro de origem a Austrália. Introduzida no Brasil no início do século XIX, é uma das espécies florestais mais cultivadas no país e isto se deve a sua capacidade de crescer rapidamente, seu manejo simples e por ser capaz de adaptar-se bem às diferentes condições edafoclimáticas (DRUMOND et al., 2016).

Ao todo são conhecidas e descritas cerca de 600 espécies de eucalipto, porém, somente algumas são utilizadas para fins de extração de óleo essencial, e no Brasil as principais espécies que se destacam para esta finalidade são: *Eucalyptus citriodora*; *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus staigeriana*, sendo esta última a mais utilizada com este objetivo e tendo sua madeira comercializada no mercado na forma de lenha. Certos fatores exercem influência quando o assunto é a obtenção deste produto, dentre eles alguns dos que mais se destacam são a instabilidade genética; a forma como o óleo é obtido; a maturidade da folha e os métodos de amostragem utilizados (VITTI; BRITO, 2003).

Os efeitos positivos dos óleos essenciais contra microrganismos têm sido demonstrados através de diversos estudos que comprovam estas propriedades. Este fato se dá pela existência de terpenóides e de compostos fenólicos. Porém estes estudos são focados em sua maioria no controle de fungos (PEREIRA, 2010).

Hendry et al., (2009), demonstraram que há atividade antimicrobiana do óleo sobre vários microrganismos, porém no referido estudo foi possível observar que o 1,8-cineol (Eucaliptol) isolado apresentou menor atividade contra os microrganismos do que o óleo

essencial em si. Diante disto é possível chegar-se a conclusão de que os constituintes do óleo isolados são menos eficientes que o próprio óleo, e isto demonstra que os demais constituintes do óleo como  $\alpha$ -pineno, globulol e limoneno também são de extrema importância e não devem ser descartados.

Dawar et al., (2007), ao utilizar óleo essencial de diferentes partes de *Eucalyptus* sp. contra *Fusarium* sp., *Rizoctania solani* e *Macrophomina phaseolina* in vitro, nas concentrações de 0,1; 1 e 5%, constataram que houve inibição do crescimento dos mesmos. Com destaque para a concentração de 5% que demonstrou os melhores resultados.

#### **2.4.3. Óleo essencial de copaíba (*Copaifera* sp.)**

As copaibeiras são árvores comuns à América Latina e África Ocidental (Francisco, 2005). No território brasileiro é possível encontrar mais de vinte espécies (Cascon; Gilbert, 2000) disseminadas principalmente nas regiões Amazônicas e Centro- Oeste do Brasil (VIEGAJUNIOR, 2002), sendo conhecidas como copaíba, copaibeira, pau-de-óleo, copaúva e copai (Cascon, 2004). São adaptadas aos mais diferentes ambientes, desde florestas de terra firme, terras alagadas, margens inundáveis dos rios e igarapés, margens arenosas de lagos, até as matas de cerrado da região central do Brasil (ALENCAR.1982). A copaíba, *Copaifera* sp., é uma árvore de grande porte, podendo alcançar 40 metros de altura, 4 metros de diâmetro e pode viver até 400 anos (ALENCAR.1982)(VIEGAJUNIOR,2002).

O termo copaíba vem do tupi “*cupa-yba*”, que significa árvore de depósito de seiva ou que tem jazida (reserva de óleo no seu interior). Dos troncos das copaibeiras é extraído o óleo-resina líquido transparente, de viscosidade variável, cuja coloração pode variar do amarelo ao marrom. Esse líquido chamado óleo-resina de copaiferas, pode ser extraído por meio de uma incisão com trado no tronco a uma altura de 1 a 1,5 metros do solo. O trado perfura o caule com uma profundidade de até 45 cm e aos poucos o óleo-resina escoar pelo furo (BIAVATTI et al., 2006), e quando terminada a coleta, o orifício é vedado com argila, impedindo a infestação por fungos, existem outras formas de extração porém é a mais recomendada, pois causa menos dano à árvore (VIEGAJUNIOR,2002).

O óleo de Copaíba provém de canais esquizolizígeos que são secretores, localizados em todas as partes das árvores, que são canais formados pela dilatação de espaços intercelulares (meatos) (CASCON, 2004). O caráter mais saliente desse aparelho está no lenho onde os canais longitudinais, distribuídos em faixas concêntricas, nas camadas de

crescimento demarcadas pelo parênquima terminal, reúnem-se com traçados irregulares em camadas lenhosas muitas vezes sem se comunicarem, óleo é o produto da desintoxicação do organismo vegetal e funciona como defesa da planta contra animais e fungos (Alencar,1982).

Veiga Junior (2002) define o óleo de Copaíba como um líquido transparente, cuja coloração varia do amarelo até o marrom, apresenta cheiro forte, sabor acre e amargo. Estudos fitoquímicos demonstram que os óleos de copaíba são misturas de sesquiterpenos e diterpenos, sendo o ácido copálico e os sesquiterpenos  $\beta$ -cariofileno e  $\alpha$ -copaeno, os principais componentes do óleo. Segundo o mesmo autor o termo correto para designar este óleo é óleo-resina de copaíba, já que ele é um exudato composto por ácidos resinosos e compostos voláteis. O óleo-resina de copaíba é uma substância natural (CASCON; GILBERT, 2000) composta de uma parte sólida (AZEVEDO et al., 2004),

O uso popular do óleo-resina de copaíba ainda é muito grande, principalmente como anti-inflamatório, cicatrizante local e internamente, como diurético, expectorante e antimicrobiano nas afecções urinárias e da garganta (misturado ao mel de abelhas e limão), leishmanicida, larvicida, antitumoral e no tratamento da dor (LORENZI; MATOS, 2002); (LEANDRO et al., 2012).

Além de sua utilização medicinal, alguns estudos comprovam a atividade do óleo de copaíba no controle de fitopatógenos. Gomes et al. (2016) estudando a eficiência dos óleos essenciais de copaíba, cravo-da-índia e manjerição na redução da incidência de fungos associados às sementes de feijão-fava, e sua interferência na qualidade fisiológica, utilizando tratamentos nas concentrações de 0; 1; 1,5 e 2 mL.L<sup>-1</sup> e fungicida (Captan<sup>®</sup>), constatou que os óleos essenciais de copaíba e manjerição reduziram consideravelmente o percentual de incidência dos fungos associados as sementes de feijão-fava. Ocorreu efeito significativo ( $p < 0,05$ ) nas concentrações dos óleos essenciais de copaíba, cravo-da-índia e manjerição com redução e controle de *Fusarium* spp.

Sousa, (2016) ao avaliar o efeito dos óleos de Andiroba, Copaíba, Eucalipto e Mamona, nas concentrações 0,10; 0,25; 0,50; 0,75; 1,25  $\mu$ L.mL<sup>-1</sup>, sobre o desenvolvimento, in vitro, de isolados de *Fusarium* spp. obtidos de Angelim, Angelim da mata, Pimentão, Louro e Maçaranduba constatou que as concentrações dos óleos de copaíba ocasionaram redução no crescimento micelial de todos os fitopatógenos testados.

#### 2.4.4. Óleo essencial de Alecrim-da- Chapada (*Lippia gracilis*)

Óleos essenciais de espécies do gênero *Lippia*, representam uma nova e promissora alternativa para o controle de fitopatógenos, tanto pelos efeitos expressivos demonstrados em alguns trabalhos, como pelas propriedades intrínsecas ao óleo. Segundo Santos et al. (2014), óleos vegetais conferem menor risco em promover resistência microbiana, por consistirem de misturas de vários compostos que atuam em diferentes sítios de ação.

O gênero *Lippia* (Verbenaceae) engloba aproximadamente 200 espécies, distribuídas entre ervas, arbustos e árvores de pequeno porte, sendo caracterizado pela presença de óleos essenciais com atividade antimicrobiana, especialmente atribuída pelos compostos timol e carvacrol. Além desses compostos, geranial (= citral, ou 3,7-dimetil-2,6-octadienal ou lemonal) e carvona constituem os compostos majoritários dos óleos essenciais de espécies de *Lippia* (OLIVEIRA et al, 2008; SOARES; TAVARES-DIAS, 2013).

No Brasil, as espécies de *Lippia* spp. cujos efeitos antimicrobianos são frequentemente citados, são: a erva-cidreira [*Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown], o alecrim-pimenta [*Lippia sidoides* Cham.] e o alecrim-da-chapada [*Lippia gracilis* Schauer], sendo esta última espécie ainda pouco explorada.

Também chamada de alecrim-da-chapada, a espécie *L. gracilis* é uma planta aromática, de ocorrência endêmica no Nordeste brasileiro, conhecida como alecrim-de-tabuleiro e/ou alecrim-de-serrote. Trata-se de um arbusto caducifólio, ramificado, que pode atingir até 2 m de altura. Possui folhas simples, aromáticas, cartáceas, com nervação impressa bem visível e flores pequenas esbranquiçadas reunidas em espigas de eixo curto. Possui em sua constituição timol e carvacrol, dois diterpenos fenólicos dotados de fortíssima atividade antimicrobiana (GOMES et al., 2011; LORENZI; MATOS, 2008).

Os efeitos do óleo essencial de *L. gracilis*, já foram observados sobre insetos (PEREIRA et al., 2008), bactérias (LORENZI; MATOS, 2008) fungos (OLIVEIRA et al. 2008) entre outros organismos, demonstrando um amplo espectro de ação. No campo da fitopatologia, os resultados obtidos até o instante, tornam esta espécie importante para o desenvolvimento de produtos promissores para as ciências agrárias.

Silva et al. (2013) observou inibição significativa de *Rhizoctonia solani* Kühn a partir da dose de 0,4 µL mL<sup>-1</sup>, sendo este um patógeno habitante do solo, com relativa dificuldade de controle. 22

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Caracterização da área experimental**

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar (CCTA) da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Pombal no período de dezembro de 2016 a março de 2017. Para realização do experimento, utilizou-se um isolado de *Macrophomina phaseolina* (Tassi.). Goid obtido de raízes de feijão-caupi que apresentavam sintomas de podridão cinzenta do caule, e os óleos essenciais de hortelã, eucalipto, copaíba e alecrim-da-chapada.

#### **3.2. Tratamentos e delineamento experimental**

O experimento foi conduzido no delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) em arranjo fatorial 4 x 4 + 1 + 1, sendo dezesseis tratamentos mais uma testemunha negativa e outra positiva, com cinco repetições. Os tratamentos constaram do meio de cultura BDA suplementado com os óleos essenciais de hortelã, eucalipto, copaíba e alecrim-da-chapada nas seguintes concentrações: 0,4; 0,6; 0,8 e 1%; a testemunha negativa, sem suplementação de óleo essencial; a testemunha positiva constou da aplicação suplementar do fungicida (Procloraz), utilizado na dose indicada (750 µL L<sup>-1</sup>). As concentrações estabelecidas para aplicação dos óleos essenciais foram tomadas com base em estudos anteriores (SOUZA, 2012).

#### **3.3. Instalação e condução do experimento**

Os óleos (tratamentos) foram adicionados em meio de cultura tipo BDA após este ser autoclavado a temperatura de ± 50 °C, e sob condições assépticas os meios contendo os tratamentos foram vertidos em placas de Petri de dimensões 90 x 15 mm. Após a solidificação em placa do meio de cultura contendo os tratamentos, foram inseridos no centro das placas discos de 8 mm retirados de outro meio de cultura onde o isolado fúngico era cultivado a sete dias. Essas placas foram então mantidas em incubadora tipo B.O.D. (biochemical oxygen demand) a 27 ± 2 °C para proporcionar o crescimento fúngico.

O crescimento das colônias foi mensurado diariamente até que a colônia tomasse toda a superfície do meio de cultura de uma das placas. O crescimento micelial foi obtido pela medição radial da colônia na placa em duas direções perpendiculares, sendo posteriormente calculada a média pela porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC), que é expressa pela fórmula: P.I.C. = [(crescimento da testemunha – crescimento do tratamento) x 100] ÷ crescimento da testemunha (EDGINTON et al., 1971). Com a média dos resultados obtidos foi determinado o índice da velocidade de crescimento micelial (IVCM) (OLIVEIRA, 1991).

$$IVCM = \frac{D - Da}{N}$$

IVCM: índice de velocidade de crescimento micelial;

D: diâmetro médio atual da colônia;

Da: diâmetro médio da colônia do dia anterior;

N: número de dias após a inoculação.

### **3.4. Obtenção dos Óleos Essenciais**

O óleo de alecrim-da-chapada foi obtido através da técnica de arraste por vapor d'água, realizada no laboratório de Biologia II do departamento de Biologia da Universidade Estadual do Rio Grande do Norte. Os óleos de hortelã e eucalipto, foram obtidos comercialmente em lojas de produtos naturais. Já o óleo de copaíba foi derivado de feira livre no estado do Pará.

### **3.5. Análise estatística**

Para avaliar o efeito dos tratamentos nas variáveis PIC (%) e IVCM, os dados foram interpretados por meio de análise de variância não paramétrica e as médias foram comparadas pelo teste de Kruskal-wallis, a 5% de probabilidade de erro. Nos casos em que existiram diferenças significativas e normalidade dos dados (óleos de hortelã, eucalipto e copaíba), foi aplicado o teste de Scott Knott em nível de 5% de probabilidade. De forma complementar a análise estatística aplicada, foram utilizados modelos de regressão linear e não linear, com o objetivo de modelar concentração dos óleos essenciais no crescimento micelial da *M. phaseolina*.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados da pesquisa, pode-se notar compatibilidade entre o percentual de inibição do crescimento micelial (PIC) de *M. phaseolina* com o índice de velocidade do crescimento (IVCM) no último dia de análise, para todos os tratamentos. Pode-se ainda destacar, que os tratamentos com óleos de hortelã e alecrim-da-chapada, bem como o fungicida, apresentaram os melhores resultados quanto a inibição do crescimento do fungo, enquanto o óleo de eucalipto apresentou capacidade de inibir o crescimento do fungo à medida que sua concentração foi aumentada, diferindo da testemunha a partir da concentração de 1,0 %. Tal fato sugere que o aumento da concentração pode vir a causar um efeito inibitório no crescimento do fungo (Tab. 1).

**Tabela 1.** Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* sob diferentes concentrações de óleos essenciais (hortelã, eucalipto, copaíba e alecrim da chapada) e o fungicida. Pombal, PB, UFCG, 2017.

Variáveis	Concentrações (%)	Tratamentos	<sup>1</sup> PIC (%)	<sup>2</sup> IVCM
Testemunha	-	T1	0,00a	25,58b
Hortelã	0,4	T2	37,38abc	16,62ab
	0,6	T3	44,34bc	14,40ab
	0,8	T4	52,27bc	11,59ab
	1,0	T5	60,04bc	11,93ab
Eucalipto	0,4	T6	5,10ab	25,96b
	0,6	T7	8,83ab	26,10b
	0,8	T8	9,77ab	25,07b
	1,0	T9	21,01abc	21,96ab
Copaíba	0,4	T10	36,25abc	14,50ab
	0,6	T11	27,89abc	16,51ab
	0,8	T12	24,91abc	17,75ab
	1,0	T13	22,88abc	18,55ab
Alecrim da chapada	0,4	T14	100,00c	0,00a
	0,6	T15	100,00c	0,00a
	0,8	T16	100,00c	0,00a
	1,0	T17	100,00c	0,00a
Fungicida	750 µL L <sup>-1</sup>	T18	78,53bc	2,20ab
CV (%)	-	-	7,96	7,85

Nas colunas, valores médios seguidos por mesma letra não diferem entre si pelo teste de associação não paramétrico de Kruskal-Wallis, admitindo-se o nível de significância de  $p < 0,05$ .

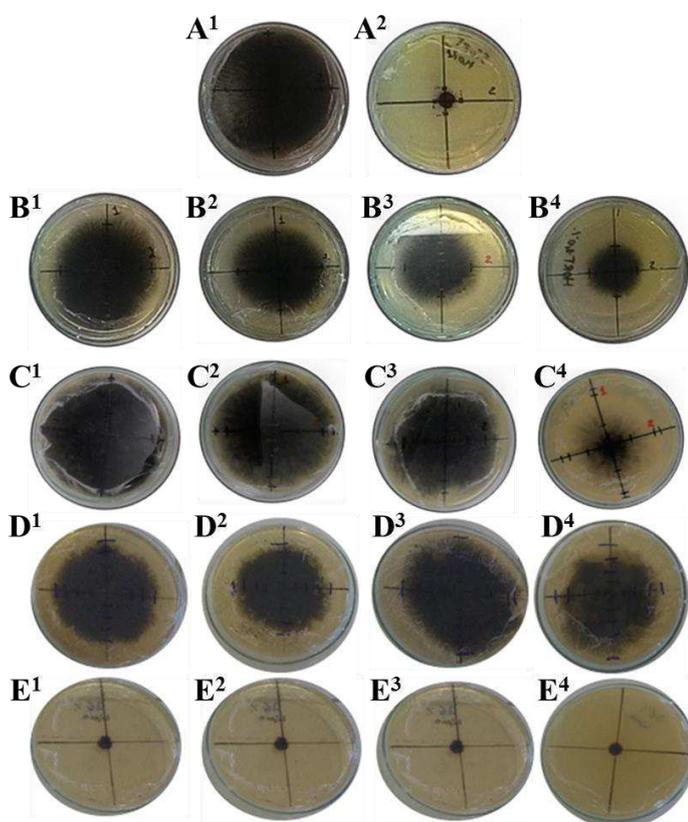
<sup>1</sup>PIC: H = 86,305; H-crit = 27,587.

<sup>2</sup>IVCM: H = 84,294; H-crit = 27,587.

Neste sentido, tem-se que, a inibição fúngica incitada pelos óleos essenciais de hortelã, eucalipto e copaíba em suas maiores concentrações, 0,8 e 1,0%, em termos de efeito, não diferiram estatisticamente do controle positivo (Fungicida comercial Sportak 450 EC<sup>®</sup>). O que demonstra uma altíssima atividade antimicrobiana desses óleos, especialmente para o patógeno em questão. Já o óleo essencial de alecrim-da-chapada, em todas as concentrações

avaliadas, inibiu 100% do crescimento micelial do fungo. Assim, tem-se que, o potencial fungistático e fungicida demonstrado pelos óleos, diferenciaram-se entre as espécies vegetais, bem como entre as diferentes concentrações, 5,10 a 100%. Em síntese tem-se que, os tratamentos com óleos essenciais de hortelã, eucalipto, copaíba e alecrim-da-chapada, apresentaram na maior concentração, um percentual de inibição do crescimento micelial de 60,04, 21,01, 22,88 e 100,0%, respectivamente (Tab. 1 e Fig. 1).

Apesar de potencialmente promissores, os óleos de eucalipto e copaíba apresentaram inibição intermediária do crescimento micelial do fungo *M. phaseolina*, abaixo 50,0%, em todas as alíquotas utilizadas. De modo que, o diâmetro do fungo foi significativamente menor que o da testemunha, mas estatisticamente maior que aqueles submetidos aos outros tratamentos de óleos essenciais (Fig. 1). Estes resultados corroboram com os observados por Perini et al. (2013), que encontraram inibição do crescimento micelial de *P. grisea*, de 30,0 e 20,39%, para os óleos de eucalipto e copaíba, respectivamente.



**Figura 1.** Comparação do crescimento micelial entre testemunhas e óleos essenciais para inibição do fungo. Pombal, UFCG, 2016.

A1,2: Testemunha negativa (Sem adição de óleo) e testemunha positiva ( $750 \mu\text{L L}^{-1}$  de Sportak 450 EC);

B, C, D e E: Óleos de hortelã, eucalipto, copaíba e alecrim-da-chapada, respectivamente.

1, 2, 3 e 4: Doses de 0,4%, 0,6%, 0,8% e 1,0%, respectivamente.

**Fonte:** Autor.

Tratando-se do óleo de eucalipto, a atividade antifúngica se dá em virtude dos principais constituintes, citronelal, cripton, cuminal e phellandral, presentes principalmente nas folhas (Guenther, 1950; Et ai, 1974). Venturoso et al. (2011) observaram que este reduziu o crescimento micelial de *D. bryoniae* em 23%. Todavia, os resultados observados diferem da total inibição do crescimento micelial encontrada de *D. byoniae* por Fiori et al. (2000) quando submetido a 20 µl óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*. De acordo com Salgado et al. (2003), o óleo essencial de eucalipto pode apresentar diferenças em seu potencial fungitóxico. Segundo Gilles et al., (2010) a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais é atribuída à presença dos compostos fenólicos e terpenóides que compõem a sua estrutura. Nos óleos essenciais de eucalipto a atividade biológica depende do tipo e natureza dois constituintes e sua concentração no óleo, variando também com a espécie, época, localização, clima idade das folhas e método de extração e seu potencial antimicrobiano é atribuído a sobretudo a presença de 1,8-cineol (PEREIRA,2010).

Para o óleo de copaíba, é possível observar equivalência no percentual de inibição do crescimento micelial independentemente da concentração empregada. Estes resultados corroboram com os encontrados por Deus et al. (2011), que avaliou o óleo de *Copaifera multijuga* quanto às suas atividades fungitóxicas, frente a cinco espécies de fungos filamentosos do gênero *Aspergillus*. Neste estudo, o óleo essencial apresentou percentual de inibição do halo de 25% e que concentrações variando de 0,3 mg.mL<sup>-1</sup> a 0,8 mg.mL<sup>-1</sup> do óleo não alterou o potencial inibitório do crescimento de *A. flavus*.

Verificou-se no estudo que, o óleo essencial de hortelã, possui elevado potencial fungicida e fungistático de *M. phaseolina*, com percentuais de inibição do crescimento micelial entre 37,38 a 60,04%. Esta ação biológica do óleo contra os microrganismos se dá em virtude das propriedades antimicrobianas, compostas por mentona, óxido de piperitona,  $\alpha$ -terpineol, carvona e linalol. Sendo o mentol um dos principais componentes responsáveis pela atividade antimicrobiana destas espécies (HUSSAIN et al., 2010; NASCIMENTO et al., 2013). Estes resultados apoiam os encontrados por Singh et al. (2015) e Tyagi et al. (2011), que analisaram ação inibitória do óleo essencial de *Mentha* sp. de fungos fitopatogênicos. Os compostos existentes nesta espécie vegetal apresentam vantagens em comparação aos produtos sintéticos, no controle de fitopatógenos. Sendo a baixa toxicidade e a acelerada degradação os pontos determinantes (COIMBRA et al., 2006).

O óleo essencial de alecrim-da-chapada, por sua vez, apresentou inibição total do crescimento micelial do fungo, para todas as concentrações avaliadas. Os percentuais

verificados foram estatisticamente iguais ao controle positivo. Todavia, é possível observar a formação de dois grupos distintos, entre esses tratamentos, com superioridade absoluta para este óleo essencial (Tab. 1). O que demonstra uma altíssima atividade antimicrobiana desse óleo, especialmente para o patógeno em questão.

Tendo em vista os excelentes resultados obtidos *in vitro*, é de grande valia a aplicação de novos testes utilizando concentrações mais baixas do produto. Além do efeito antifúngico do óleo de alecrim-da-chapada, este apresenta ação antibacteriana (NASCIMENTO et al., 2007). Sendo assim, sugere-se que este óleo essencial tem efeito inespecífico no controle de fitopatógenos, característica altamente desejável para os indutores naturais de resistência.

A inibição ocasionada por óleos essenciais do gênero *Lippia* é devida aos teores elevados de carvacrol (41,7%) e timol (10%) que são responsáveis pela atividade antimicrobiana (MATOS et al., 2004), agindo na redução da germinação conidial, causando a morte subsequente do fungo. (DEMETZOS et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2008). Embora muitos monoterpenoides tenham propriedades antimicrobianas, o grau de toxicidade dos diferentes compostos para uma espécie determinada difere consideravelmente. Porém, o timol e o carvacrol são efetivos contra a maioria das espécies de fungos (MULLER et al., 1995; TSAO e ZHOU, 2000). O mecanismo de ação destas substâncias químicas envolve uma lesão primária da membrana, com morte celular inerente (PINA-VAZ et al., 2004; ISMAN e MACHIAL, 2006).

O resultado da análise de variância revelou que houve interação significativa entre os diferentes óleos e concentrações para o percentual de inibição do crescimento micelial de *M. phaseolina* (Tab. 2).

**Tabela 2.** Quadro resumo da análise de variância para a variável porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC), UFCG, Pombal-PB, 2017.

F.V.	G.L.	PIC (%)
Óleos (F1)	2	6660,602**
Doses (F2) <sup>1</sup>	3	203,398**
Int. F1 x F2	6	327,302**
Tratamentos	11	1445,019**
Resíduo	48	51,833
Regressão linear <sup>2</sup>	1	534,277**
Regressão quadrática	1	75,822*
Regressão cúbica	1	0,095 <sup>ns</sup>
Média	-	29,53
CV (%)	-	24,38

\*\*significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ); \*significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $0,01 < p < 0,05$ );

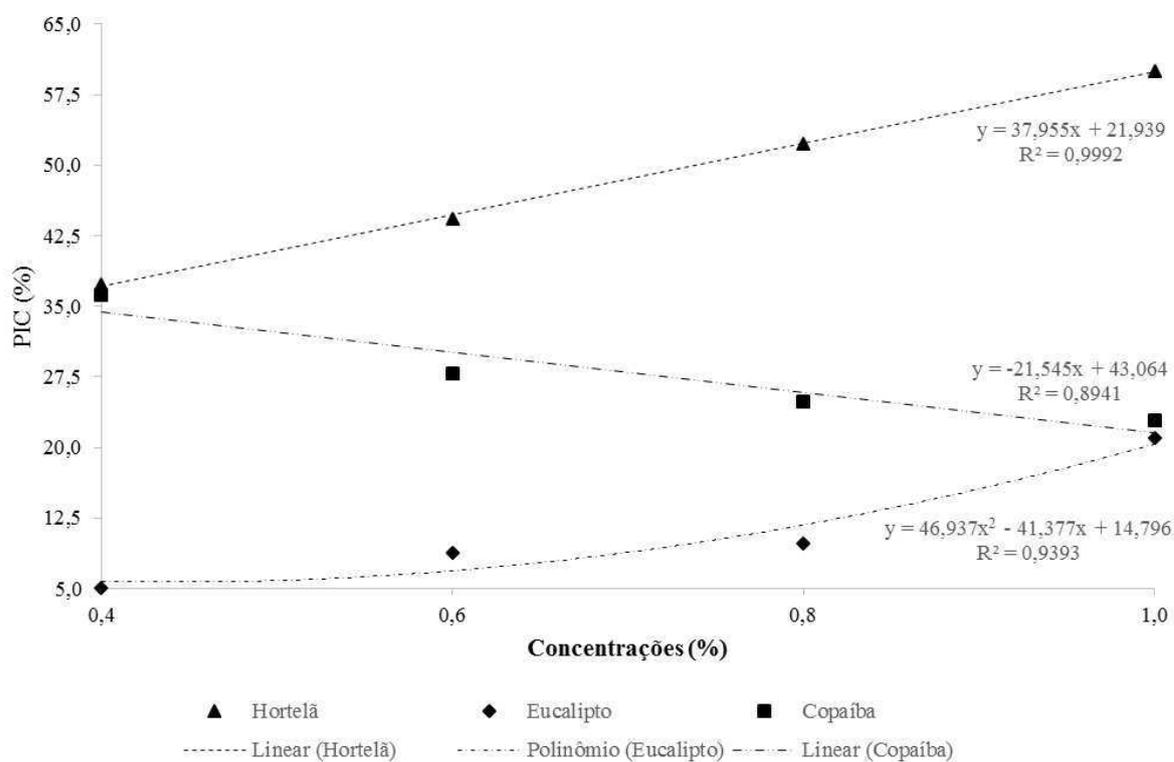
<sup>ns</sup>não significativo ( $p > 0,05$ ).

<sup>1</sup>G.L.: Grau de liberdade; <sup>2</sup>Q.M.:Quadrado médio.

<sup>1</sup>Os tratamentos são quantitativos. O Teste F não se aplica.

<sup>2</sup>Coefficiente de correlação:  $r = 0,935$ .

A comparação do percentual de inibição do crescimento micelial de *M. phaseolina* sob exposição aos óleos de hortelã, eucalipto e copaíba, demonstra que, para o óleo essencial de hortelã, houve um aumento proporcional ao incremento gradativo das concentrações utilizadas. No entanto, o mesmo não é observado para o óleo de eucalipto, uma vez que, o aumento da inibição foi praticamente nula até a concentração de 0,8%, indicando efeito mais pronunciado do óleo quando utilizadas concentrações maiores. Com efeito contrário aos demais, o óleo de copaíba apresentou sensível redução do potencial inibitório do crescimento do fungo com o incremento das doses (Fig. 2).



**Figura 2.** Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* em função de diferentes concentrações dos óleos essenciais de hortelã, eucalipto e copaíba.

Neste sentido, constatou-se efeito significativo para interação entre os fatores óleos essenciais e concentrações. Ao analisar a porcentagem de inibição do crescimento micelial em virtude das concentrações dos óleos essenciais no meio, observa-se que houve efeito linear crescente para o óleo de hortelã e decrescente para o de copaíba, com acréscimo de 37,95% e decréscimo de 21,54% a cada incremento unitário da concentração dos óleos, respectivamente. Já o óleo essencial de eucalipto comportou-se quadraticamente com acréscimo das concentrações, atingindo a maior porcentagem de inibição, 21,01%, na concentração de 1,0%, com acréscimo de 46,93% de inibição do crescimento do fungo, entre as concentrações 0,8 e 1,0%.

O teste *in vitro* do potencial inibitório dos diferentes óleos essenciais, dentre estes o óleo de hortelã, sobre o crescimento micelial de *M. phaseolina*, indicou o elevado potencial, acima de 60%, do referido óleo em impedir que o fungo se desenvolvesse sob condições artificiais. Porém o mesmo não ocorre para os óleos de eucalipto e copaíba. Apesar dos compostos presentes no eucalipto e na copaíba terem sido relatados com ação fungicida e fungistática em diversos estudos para o controle de fitopatógenos, dentre eles *M. phaseolina* (DAWAR et al., 2007). Ainda são escassas informações na literatura com relação à forma mais eficaz de utilização do óleo, bem como, as concentrações mais adequadas.

Essa inibição é apresentada devido à variedade de fitoquímicos como mentol, acetato de mentilo, viridiflorol e ledol presentes em maior concentração nesse óleo essencial (AKGUL e KIVANC (1988). Os resultados deste estudo corroboram, com pesquisa realizada por Abdel-Kader et al. (2011), que identificaram efeito do óleo de hortelã na redução do crescimento micelial do fungo, *M. phaseolina*, nas concentrações de 1,0, 2,0 e 4,0 % do óleo de hortelã. El-Mougy et al. (2007), reportaram que o óleo essencial de hortelã na concentração de 4,0 % tem efeito inibitório total no crescimento micelial da *M. phaseolina*, em testes *in vitro*.

No mesmo sentido, estudos realizados por Sousa et al. (2012) e Carnelossi et al. (2009), também identificaram potencial fungitóxico sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, de diferentes óleos essenciais, dentre eles o de hortelã. Já Ribeiro e Bedendo (1999), constataram que houve efeito inibitório sob *Colletotrichum gloeosporioides*, ao utilizar o extrato aquoso de folhas de hortelã incorporado ao BDA através da concentração de 200ppm. Khaledi et al. (2014), estudando a atividade antifúngica de vários óleos essenciais contra *Rhizoctonia solani* e *Macrophomina phaseolina*, observaram que o óleo de *Mentha piperita* apresentou efeito inibidor do crescimento para ambos os fungos, de 100% na concentração de 2000ppm.

O óleo essencial de eucalipto, promoveu inibição no crescimento micelial de *M. phaseolina*, de forma efetiva, apenas na concentração de 1,0 %, com 31,54 %. De modo que o potencial fungistático e fungicida demonstrado pelo óleo, não se diferenciou nas demais concentrações (Fig. 2). O que se pode observar é que apesar de existente, a ação inibitória do óleo é insignificante, uma vez que, mostrou-se inferior a menor concentração utilizada para o óleo de hortelã. Provavelmente as concentrações utilizadas não foram suficientes para mostrarem uma inibição satisfatória do fungo.

Dawar et al. (2007), utilizando extrato aquoso de folhas, caule, casca e fruto de *Eucalyptus* sp., observaram inibição do crescimento de *Fusarium* sp., *Rhizoctonia solani* e *Macrophomina phaseolina* à medida que promovia o aumento percentual nas concentrações do extrato. Tal fato sugere que um aumento nas concentrações aplicadas pode vir a causar um efeito inibitório mais pronunciado no crescimento do fungo.

O mesmo comportamento foi observado por Salgado et al. (2003), quando realizou estudo com óleos extraídos de diferentes espécies de eucalipto, os autores observaram que a inibição do crescimento micelial do fungo acontecia a medida que a concentração da substância era aumentada. Comprovando a eficácia deste produto sobre o crescimento do patógeno. Javaid e Rehman (2011), analisando a atividade antifúngica de extratos foliares de quatro árvores, entre elas *Eucalyptus citriodora* Roxb., no controle de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid, demonstraram que estes extratos contém em sua composição componentes com atividade antifúngica para controle do respectivo fungo.

Quanto à atividade antimicrobiana observada para o óleo de Copaíba (*Copaifera multijuga*), durante o período experimental, pode-se supor que os microrganismos estão degradando as substâncias inibitórias. Todavia, o fenômeno que permitiu a minimização do efeito tóxico, à medida que se aumentou a concentração no meio de cultura e fazendo com que os microrganismos pudessem se desenvolver, ainda é desconhecido na literatura.

Alguns resultados encontrados na literatura corroboram com os verificados nesta pesquisa, no diz respeito ao percentual médio de inibição do crescimento micelial, em torno de 30-40%. Porém se distinguem quanto a proporcionalidade da relação concentração do óleo e inibição do crescimento, bem como foi observado por Melo et al. (2012) e Ishida et al. (2008), quando testaram óleo essencial de Copaíba e verificaram o potencial destes em inibir o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Fusarium solani*, respectivamente, à medida em que foi aumentada a concentração do óleo no meio de cultura.

## 5. CONCLUSÕES

1. O óleo essencial de hortelã é um potencial inibidor de *M. phaseolina*. Pois reduziu o crescimento micelial do patógeno em todas as concentrações.
2. Foi observado efeito inibitório de 100% no crescimento micelial de *M. phaseolina* em todas as concentrações do óleo essencial de alecrim-da-chapada utilizadas, apresentando percentuais estatisticamente iguais ao controle positivo, sendo de grande importância novos estudos utilizando concentrações mais baixas deste produto.
3. O óleo de copaíba apresentou equivalência no percentual de inibição do crescimento micelial independentemente da concentração empregada mostrando sensível redução do potencial inibitório do crescimento do fungo com o incremento das doses.
4. O óleo essencial de eucalipto não promoveu redução do crescimento micelial de *M. phaseolina* a partir das concentrações utilizadas, com exceção da concentração de 1% que apresentou uma leve redução.

## 6. REFERÊNCIAS

- ABAWI, G.S.; PASTOR-CORRALES, M.A. Root rots of bean in Latin America and Africa: diagnosis, research methodologies and management. Diagnóstico da patologia de sementes de caupi: *Vigna unguiculata* **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 40, n.1, p 197-203, 1997.
- ABDEL-KADER, MOKHTAR; EL-MOUGY, NEHAL; LASHIN, SIRAG. Essential oils and *Trichoderma harzianum* as an integrated control measure against faba bean root rot pathogens. **Journal of Plant Protection Research**, v. 51, n. 3, p. 306-313, 2011.
- AKGUL, A.; KIVANÇ, M. Inhibitory effect of selected Turkish spices and oregano components on some common foodborne fungi. **International Journal Food Microbiology**, v. 6, p. 263-268, 1988.
- ALENCAR, J.C. Estudos silviculturais de uma população natural de *Copaifera multijuga* Hayne-Leguminosae, na Amazônia Central. 2- Produção de óleo-resina. **Acta Amazônica**.v.12, n.1, p.75-89, jan./mar. de 1982.
- ALMEIDA, L. F. R., FREI, F., MANCINI, E., MARTINO, L., DE FEO, V. Phytotoxic activities of Mediterranean essential oils. **Molecules**, v.15, n.6, p.4309-4323, 2010.
- ARAÚJO, E. Diagnóstico da patologia de sementes de caupi: *Vigna unguiculata* (L.) Walp. , no Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**, v.7, p.91-103, 1985.
- ATHAYDE SOBRINHO, C.; VIANA, F. M. P.; SANTOS, A. A. Doenças do feijão caupi. In: CARDOSO, M.J. (Org.). **A cultura do feijão caupi no Meio-Norte do Brasil**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2000. p.120-145.
- ATHAYDE SOBRINHO, C.; VIANA, F.M.P.; FREIRE FILHO, F.R.; MORAES, S.M.D. **Microrganismos associados às sementes de feijão caupi com ênfase à presença de *Macrophomina phaseolina***. Teresina: EMBRAPA, CPAMN, 1998. 8p. (EMBRAPA CPAMN. Comunicado Técnico, 88).
- AZEVEDO, L. F.; OLIVEIRA, T. P.; PORTO, A. G. & SILVA, F. A capacidade estática de armazenamento de grãos no Brasil. **Artigo do XXVIII Encontro Nacional de Engenharia de Produção, RJ**, p.04-05, 2008.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D. & IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils - A review. **Food and chemical toxicology**, v.46, n.2, p.446-475, 2008.
- BATISH, D. R.; SINGH, H.P.; KOHLI, R.K.; KAUR, S. Eucalyptus essential oil as natural pesticide. **Forest Ecology and Management**, v.256, n.12, p.2166-2174, 2008.

- BLAVATTI, M. W.; DOSSIN, D.; DESCHAMPS, F. C.; LIMA, M. P. Análise de óleos-resinas de copaíba: contribuição para o seu controle de qualidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n. 2, p. 230-235, 2006.
- BRUM, R. **Efeito de óleos essenciais no controle de fungos fitopatogênicos**. Gurupi, 2012. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Tocantins (UFT).
- CASCON, V. Copaíba - *Copaifera spp.*. In: CARVALHO, J.C.T. **Fitoterápicos antiinflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas**. Ribeirão Preto: Tecmedd, 2004. 480p.
- CASCON, V.; GILBERT, B. Characterization of the chemical composition of oleoresins of *Copaifera multijuga* Hayne. *Phytochemistry*. v.55, p.773-78, dez. de 2000.
- CARNELOSSI, P.R.; SCHUWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S.; ITAKO, A.T.; MESQUINI, R.M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.11, n.4, p.399-406, 2009.
- COELHO NETO, R. A. **Metodologia e avaliação da resistência de feijoeiro a podridão cinzenta do caule, em laboratório e casa-de-vegetação**. Viçosa, 1994. 54p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa (UFV).
- COIMBRA, J. L.; SOARES, A. C. F.; GARRIDO, M. D. S.; SOUSA, C. D. S. & RIBEIRO, F. L. B. Toxicity of plant extracts to *Scutellonema bradys*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.7, p.1209-1211, 2006.
- DAWAR, S. H. A. H. N. A. Z., YOUNUS, S. M., TARIQ, M. A. R. I. U. M., & ZAKI, M. J. Use of *Eucalyptus sp.*, in the control of root infecting fungi on mung bean and chick pea. **Pak. J. Bot**, v.39, n.3, p.975-979, 2007.
- DEMETZOS, C.; PERDETZOGLOU, D. K.; TAN, K. Composition and antimicrobial studies of the oils of *Origanum calcaratum* Juss. and *O. Scabrum* Boiss. et Heldr. form Greece. **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v.13, n.6, p.460-462, 2001.
- DEUS, R.J.A.; ALVES, C.N.; ARRUDA, M.S.P. Avaliação do efeito antifúngico do óleo resina e do óleo essencial de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.1, p.1-7, 2011.
- DHINGRA, O.D.; SINCLAIR, J.B. **Biology and pathology of *Macrophomina phaseolina***. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1978. 166p.
- DIAS-ARIEIRA, C. R.; FERREIRA, L. D. R.; ARIEIRA, J. D. O.; MIGUEL, E. G.; DONEGA, M. A. & RIBEIRO, R. C. F. Atividade do óleo de *Eucalyptus citriodora* e *Azadirachta indica*

- no controle de *Colletotrichum acutatum* em morangueiro. **Summa phytopathologica**, v. 36, n.3, p.228-232, 2010.
- DINIZ, S. P. S. S.; COELHO, J. S.; ROSA, G. S.; SPECIAN, V.; OLIVEIRA, R. C. & OLIVEIRA, R. R. Bioatividade do óleo essencial de *Mentha arvensis* L. no controle de fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.10, p.9-11, 2008.
- DRUMOND, M. A.; OLIVEIRA, V. R.; RIBASKI, J. Eucalipto no Semiárido brasileiro. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2016. 42 p. il. (Embrapa Semiárido. Documentos, 276; Embrapa Florestas. Documentos, 297).
- DWIVEDI, R. S.; DUBEY, R.C. Effects of volatile and non-volatile fractions of two medicinal plants on germination of *Macrophomina phaseolina sclerotia*, **British Mycological Society**, v.87, n.2, p.326-328, 1986.
- EDGINTON, L. V.; KHEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology**, v.62, n.7, p.42-44, 1971.
- EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO. **Dados conjunturais da produção de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) e caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) no Brasil (1985 a 2014): área, produção e rendimento**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2015. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/socioeconomia/index.htm>>. Acesso em: 30/03/2017.
- EMBRAPA MEIO NORTE, 2016. **A cultura do feijão-caupi no Brasil**. Teresina - Piauí: Embrapa Meio Norte, 2016. Disponível em: <[ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/156725/1/Cap1a12.pdf](http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/156725/1/Cap1a12.pdf)>. Acesso em: 10/03/2017. Embrapa/CPATU, 1994. 24 p. (Documentos, 75).
- FAO (2015). FAOSTAT. **Crops. Cow peas, dry**. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>>. Acesso em: 10/03/2017.
- FARR, D. F., ROSSMAN, A. Y., PALM, M. E. & MCCRAY, E. B. **Fungal databases, 2008**. Disponível em:< <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/index.cfm>>. Acesso em: 04 jan. 2017.
- FIORI, A. C. G.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; SCAPIM, C. A.; CRUZ, M. E. S. PASCHOLATI, S. F. Antifungal Activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. **Journal of Phytopathology**, 148, p. 483-487, 2000.
- FONSECA, M. C. M.; LEHNER, M. D. S.; GONÇALVES, M. G.; JÚNIOR, P.; SILVA, A. F.; BONFIM, F. P. G. & PRADO, A. L. Potencial de óleos essenciais de plantas medicinais no controle de fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, p.45-50, 2015.

- FRANCISCO, S.G. Uso do óleo de copaíba (*Copaifera officinalis*) em inflamação ginecológica. **Femina**, v.33, n.2, p.89-93, 2005.
- FREIRE FILHO, F. R., RIBEIRO, V. Q.; ROCHA, M. M., SILVA, K.; NOGUEIRA, M. S. R. & RODRIGUES, E. V. Produção, melhoramento genético e potencialidades do feijão-caupi no Brasil. **IV Reunião de**, 2011.
- FREIRE, M. M. Composição e atividade antifúngica do óleo essencial de hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.). 2006. 67 f. 2006. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- FROTA, A. B.; PEREIRA, P. R. Caracterização da produção de feijão-caupi na região Meio-Norte do Brasil. **A cultura do feijão-caupi no Meio-Norte do Brasil. Teresina: Embrapa Meio-Norte**, v.28, p.9-25, 2000.
- GILLES, M.; ZHAO, J.; AN, M.; AGBOOLA, S. Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian *Eucalyptus* species. **Food Chemistry**, Barking, v. 119, p. 731-737, 2010.
- GOMES, S. V. F.; NOGUEIRA, P. C. L.; MORAES, V. R. S. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. **Eclética Química**, São Paulo, v. 36 n. 1, 2011.
- GUPTA, GIRISH K.; SHARMA, SUSHIL K.; RAMTEKE, RAJKUMAR. Biology, epidemiology and management of the pathogenic fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid with special reference to charcoal rot of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). **Journal of phytopathology**, v.160, n.4, p.167-180, 2012.
- HENDRY, E. R.; WORTHINGTON, T.; CONWAY, B. R. & LAMBERT, P. A. Antimicrobial efficacy of eucalyptus oil and 1, 8-cineole alone and in combination with chlorhexidine digluconate against microorganisms grown in planktonic and biofilm cultures. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.64, n.6, p.1219-1225, 2009.
- HUSSAIN, A. I.; ANWAR, F.; NIGAM, P. S.; ASHRAF, M. & GILANI, A. H. Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, n.11, p.1827-1836, 2010.
- ISHIDA, A.K.N.; AMARAL, M.A.C.M.; GURGEL, E.S.C.; TREMACOLDI, C.R.; SOUSA FILHO, A.P. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de *Copaifera* sobre

- Fusarium solani* f. sp. Piperis Albuquerque. In: Congresso Brasileiro de Defensivos Agrícolas Naturais, 6., 2008, Belém. **Anais**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2008. p.47.
- ISMAN, M. B.; MACHIAL, C. M. Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization. In: RAI, M.; CARPINELLA, M. C. (eds.), **Naturally Occurring Bioactive Compounds**, Elsevier, BV, Amsterdam, 2006, p 29-44.
- ISMAN, M.B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, v.19, p.603-608, 2000.
- JAVAID, ARSHAD; REHMAN, HAFIZA ASMA. Antifungal activity of leaf extracts of some medicinal trees against *Macrophomina phaseolina*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v.5, n.13, p.2868-2872, 2011.
- KAUR, S., SINGH, H. P., MITTAL, S., BATISH, D. R., & KOHLI, R. K. Phytotoxic effects of volatile oil from *Artemisia scoparia* against weeds and its possible use as a bioherbicide. **Industrial Crops and Products**, v.32, n.1, p.54-61, 2010.
- KHALEDI, NIMA; TAHERI, PARISSA; TARIGHI, SAEED. Antifungal activity of various essential oils against *Rhizoctonia solani* and *Macrophomina phaseolina* as major bean pathogens. **Journal of applied microbiology**, v.118, n.3, p. 704-717, 2015.
- KOKETSU, M.; GONÇALVES, S. L. **Óleos essenciais e sua extração por arraste a vapor**. Embrapa - CTAA, Rio de Janeiro, 1991. 24p.
- KORDALI, S., ÇAKIR, A., AKCIN, T. A., METE, E., AKCIN, A., AYDIN, T., & KILIC, H. Antifungal and herbicidal properties of essential oils and n-hexane extracts of *Achillea gypsicola* Hub-Mor. and *Achillea biebersteinii* Afan.(Asteraceae). **Industrial crops and products**, v.29, n.2, p.562-570, 2009.
- LEANDRO, L. M. ; VARGAS, F.S. ; BARBOSA, P.S.C. ; NEVES, J.K.O.; SILVA, J.A.; VEIGA-JUNIOR, V.F. Review: **Chemistry and Biological Activities of Terpenoids from Copaiba (*Copaifera* spp.) Oleoresins**. **Molecules**, v. 17, p. 3866-3889, 2012.
- LIBERATO, M. C. Feijão. In: **Enciclopédia Verbo Luso-Brasileira da cultura**. Edição século XXI, vol. 1, Ed. Verbo, 1999.
- LORENZI H.F.; MATOS F. J. A. **Plantas Mediciniais do Brasil, nativas e exóticas**. São Paulo: Instituto Plantarum. 2002, 544 p
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de estudos da flora LTDA, 2008. 544p.

- MAGALHÃES, A.A.; CHOUDHURY, M.M.; MILLAR, A.A.; ALBUQUERQUE, M.M. Efecto del deficit de agua en el suelo en el ataque de *Macrophomina phaseolina* en frijol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.17, p.407-411, 1982.
- MAHBOUBI, M.; HAGHI, G. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. **Journal of Ethnopharmacology**. v.119, n.2, p.325–327, 2008.
- MATOS, F. J. A.; MATOS, M. E. O.; MACHADO, M. I. L.; CRAVEIRO, A. A. **Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de plantas medicinais brasileiras**. 2. ed. Fortaleza-CE: UFC, 2004. 445 p.
- MENEZES, M., MACHADO, A. L. M., DA SILVEIRA, M. D. C. V., & DA SILVA, R. L. X. Biocontrole de *Macrophomina phaseolina* com espécies de *Trichoderma* aplicadas no tratamento de sementes de feijão e no solo. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, v.1, p.133-140, 2013.
- MICHEREFF, SAMI J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, MARIA. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Universidade Federal e Rural de Pernambuco, 2005.
- MULLER, R. F.; BERGER, B.; YEGEN, O. Chemical composition and fungi toxic properties to phyto pathogenic fungi of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.43, n.8, p. 2262-2266, 1995.
- NASCIMENTO, A.R.; CARVALHO, E.P.; FURTADO-NETO, A.M.A.A.; MARTINS, A.G.L.A.; VIEIRA, R.H.S.F. Atividade antibacteriana de óleos essenciais Frente a bactérias isoladas de sururu, *Mytella falcata*. **Arquivos Ciência do Mar**, v.40, n.2, p.47-54, 2007.
- NASCIMENTO, S. M. C.; CARVALHO, E. A.; WARWICK, D. R. N.; PALHETA, J. G.; SANTOS, T. P. F. Inibição do crescimento micelial de *Thielaviopsis paradoxa* por óleos vegetais. In: ENCONTRO AMAZÔNICO DE AGRÁRIAS, 5., 2013, Belém, PA. A importância da tecnologia e do empreendedorismo no desenvolvimento amazônico. Belém, PA: UFRA, 2013.
- NORONHA, M. A.; GONÇALVES, S. R.; SILVA, H. K.; SILVA, K. J. D. Influência da concentração de inóculo de *Macrophomina phaseolina* na severidade da doença em genótipos de feijão-caupi. **Tropical Plant Pathology**, v.35, supl., S147, 2010.
- OLIVEIRA, J.A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L.) e pimentão (*Capsicum annum* L.)**. 1991. 111p. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Fitossanidade) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

- OLIVEIRA, O. R.; TERAPO, D.; CARVALHO, A. C. P. P.; INNECCO, R.; ALBUQUERQUE, C. C. Efeito de óleos essenciais de plantas do gênero *Lippia* sobre fungos contaminantes encontrados na micropropagação de plantas. **Revista Ciência Agronômica**, v.39, n.01, p.94-100, 2008.
- OOTANI, M. A.; AGUIAR, R. W.; RAMOS, A. C.; BRITO, D. R.; SILVA, J. B. D. & CAJAZEIRA, J. P. Use of essential oils in agriculture. **Journal of biotechnology and biodiversity**, v. 4, n. 2, p. 162-175, 2013.
- PEDROSO, C. Incidência, controle de doenças de feijão-vagem e anatomia e histoquímica de *Phaseolus vulgaris* e *Vigna unguiculata* resistentes e suscetíveis ao oídio (*Erysiphe polygoni*). 2012.
- PEREIRA, J. L. **Composição química dos óleos essenciais de espécies de *Eucalyptus* L'Herit (Myrtaceae)**. 2010. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa.
- PERINI, V.B.M.; CASTRO, H.G.; SANTOS, G.R.; CHAGAS Jr., A.F.; CARDOSO, D.P.; AGUIAR, R.W.S.; SOARES, A.A. Effect of vegetal extract in the inhibition of mycelial growth of *Pyricularia grisea*. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, n.1: p.70-77, 2013.
- PINA-VAZ, C.; RODRIGUES, A. G.; PINTO, E.; OLIVEIRA, S. C.; TAVARES, C.; SALGUEIRO, L.; CAVALEIRO, C.; GONÇALVES, M. Antifungal activity of Thymus oils and their major compounds. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v.18, n.1, p.73-78, 2004.
- PIO-RIBEIRO, G.; ASSIS FILHO, F.M. Doenças do caupi. In: KIMATI, H.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; RESENDE, J.A.M. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3ed. São Paulo: Ceres, 1997. v.2, p.233-244.
- POLTRONIERI, L. S.; TRINDADE, R. S.; SILVA, J. F. A. F. **Principais doenças do Caupi**(*vigna unguiculata* (L.) Walp.) no Pará e recomendações de controle. Belém: embrapa/CPATU, 1994.24P (DOCUMENTOS,75).
- PONTE, J.J. **Clínica de doenças de plantas**. Fortaleza: EUFC, 1996. 605 p.
- RIBEIRO, L.F.; BEDENDO, I.P. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* - agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. **Scientia Agricola**, v.56, n.4, Supl, p.1267-1271, 1999.
- RIOS, G.P. Doenças fúngicas e bacterianas do caupi. In: ARAÚJO, J.P.P.; WATT, E.E. (Org.). **O caupi no Brasil**. Brasília: IITA, EMBRAPA, 1988. p.549-589.

- ROCHA, M. DE M.; CARVALHO, K. J. M.; FREIRE FILHO, F. R.; LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F.; SOUSA, I. S. Controle genético do comprimento do pedúnculo em feijão-caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 3, p. 270-275, 2009
- RODRIGUES, V. J. L. B.; MENEZES, M.; COELHO, R. S. B; MIRANDA, P. Identificação de fontes de resistência em genótipos de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walpers.) a *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid., em condições de casa-de-vegetação. **Summa Fitopathologica**, v.23, p.170-172, 1997.
- SALGADO, A. P. S. P.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; SOUZA, J. P.; ABREU, C. M. P.; PINTO, J. E. B. P. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 2, p.249-254, 2003.
- SANTOS, M. M.; PEIXOTO, A. R.; PESSOA, E. de S.; NEPA, H. B. dos S.; PAZ, C. D. da.; SOUZA, A. V. V. de. Estudos dos constituintes químicos e atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia gracilis* a *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* “in vitro”. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 40, n. 3, p. 277-280, 2014.
- SHARMA, NEETA; TRIPATHI, ABHISHEK. Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem. **Microbiological Research**, v. 163, n. 3, p. 337-344, 2008.
- SILVA, J. L.; TEIXEIRA, R. N. V.; SANTOS, D. I. P. & PESSOA, J. O. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o crescimento in vitro de fitopatógenos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.7, n.1, p.80-86, 2012.
- SILVA, C. de F. B. da.; MICHEREFF, S. J. Biology of *colletotrichum* spp. and epidemiology of the anthracnose in tropical fruit trees. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 26, n. 4, p. 130 – 138, 2013.
- SOARES, BRUNA VIANA, TAVARES-DIAS, MARCOS. Espécies de *Lippia* (Verbenaceae), seu potencial bioativo e importância na medicina veterinária e aquicultura. **Biota Amazônia**, Macapá, v. 3, n. 1, p. 109-123, 2013.
- SINGH, R.; MUFTAH, A.M.S.; BELKHEIR, A. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. **Arabian Journal of Chemistry**. v.8, n.3, p.322–328, 2015.
- SOUSA, R. M. S; SERRA, I. M. R. S; MELO, T. A. Efeito de óleos essenciais como alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, em pimenta. **Summa Phytopathologica**, v.38, n.1, p.42-47, 2012.

- SOUSA, B. C. M de.; LUSTOSA, D.C.; LOURIDO, K. A.; VIEIRA, T. A. **Controle alternativo de Fusarium spp. com quatro óleos vegetais**. Cadernos de Agroecologia, [S.l.], v. 10, n. 3, maio 2016. ISSN 2236-7934.
- TSAO, R.; ZHOU, T. Antifungal activity of monoterpenoids against postharvest pathogens *Botrytis cinerea* and *Monilinia fructicola*. **Journal of Essential Oil Research**, v.12, n.1, p.113-121, 2000.
- TYAGI, A.K.; MALIK, A. Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. **Food Control**. v.22, p.1707-1714, 2011.
- VAZ, A. P. A.; JORGE, M. H. A. Hortelã. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2006. 1p. (**Plantas medicinais, codimentares e aromáticas**). Folder Formato Eletrônico.
- VENTUROSO, L.R.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, v.37, n.1, p.18-23, 2011.
- VITTI, A. M. S.; BRITO, J. O. **Óleo essencial de eucalipto**. 2003.