



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

TIAGO SILVA LIMA

**POTENCIAL DO ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO DA ÍNDIA SOBRE
FUNGOS FITOPATOGÊNICOS EM SEMENTES DE MILHO**

**POMBAL – PB
2019**

TIAGO SILVA LIMA

**POTENCIAL DO ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO DA ÍNDIA SOBRE
FUNGOS FITOPATOGÊNICOS EM SEMENTES DE MILHO**

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

Orientador: D. Sc. Tiago Augusto Lima Cardoso

**POMBAL – PB
2019**

CAMPUS DE POMBAL
POTENCIAL DO ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO DA ÍNDIA SOBRE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS E EM SEMENTES DE MILHO

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Sistemas Agroindustriais do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar da Universidade Federal de Campina Grande, Campus Pombal-PB, em cumprimento às exigências para obtenção do Título de Mestre (M.Sc.) em Sistemas Agroindustriais.

COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. D.Sc. Tiago Augusto Lima Cardoso
Orientador



Prof. D.Sc. Antônio Francisco de Mendonça Júnior
Examinador Interno



Prof. D.Sc. Fernando Antônio de Almeida
Examinador Externo

Pombal - PB, 01 de março de 2019.

L723p Lima, Tiago Silva.
Potencial do óleo essencial do cravo da índia sobre fungos
fitopatogênicos em sementes de milho / Tiago Silva Lima. – Pombal,
2019.
58 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) – Universidade
Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia
Agroalimentar, 2019.

"Orientação: Prof. Dr. Tiago Augusto Lima Cardoso".
Referências.

1. Cultura do milho. 2. Controle de fungos. 3. Óleos essenciais. 4.
Cravo da índia. 5. Fungicida. 6. Fungos - Controle alternativo. 7. Efeito
fungitóxico. I. Cardoso, Tiago Augusto Lima. II. Título.

CDU 633.15(043)

DEDICATÓRIA

A minha mãe, Cláudia da Silva Araújo, meu pai, Jackson Alberto Cardoso Lima, aos meus irmãos Daniel Silva Lima, Matheus Lima (*in memoriam*), Helena Lima, Éster Lima, minha sobrinha Clara Cristal Mendes Lima e minha namorada Ariele Matutino, pela compreensão, apoio, ajuda motivacional e financeira. Por essa razão, dedico e reconheço a vocês, minha imensa gratidão e amor.

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos...

Aos meus pais e irmãos, em especial meu irmão Matheus Lima (*in memoriam*), que sempre esteve presente em todos os momentos bons e ruins, sempre me protegendo e querendo meu melhor, sinto muito sua falta, e a toda minha família que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida.

À minha namorada Ariele Matutino, por todo amor, carinho, paciência, se fazendo sempre presente apesar da distância, e por todos os momentos juntos.

Aos meus orientadores, Tiago Augusto Lima Cardoso e Antônio Francisco de Mendonça Júnior, pela oportunidade, amizade, contribuições, instruções e confiança.

A todos os professores que foram tão importantes na minha vida acadêmica e na formação profissional.

Aos colegas e amigos do grupo de pesquisa “Proteção de plantas na Agricultura Sustentável”, em especial ao meu amigo Kevison Romulo da Silva França, pela amizade e ajuda durante o mestrado.

Aos amigos Kaique Oliveira, José Carlos, Alex Béu, Danilo Lima, Filipe Quirino, Eduardo Pereira, Tássio Almeida, José Galdino, José Lucas, Plínio Tércio, Igor Bruno, Marcio Santos, Artur Dantas, Hélio Neto, Jackson Nóbrega, Jardel Andrade, Vinicius Nascimento e demais amigos, por todos os momentos de felicidade compartilhados, pela cumplicidade e apoio motivacional em todos os momentos.

Ao professor Fernandes Antonio de Almeida, por ceder o laboratório de fitopatologia para que pudéssemos realizar este e outros estudos.

Agradecer as importantes contribuições feitas pelas professoras Ana Paula Medeiros dos Santos Rodrigues e Maria Lúcia Tiburtino Leite Almeida na defesa de qualificação.

À banca examinadora, pelas importantes contribuições na melhoria do trabalho.

Por fim, a todos aqueles que de forma direta ou indiretamente, contribuíram para que esse momento se tornasse uma realidade. Obrigado!

RESUMO

O milho (*Zea mays* L.) é um cereal de significativa importância devido ao seu extenso uso na alimentação humana e animal. O Brasil é um dos maiores produtores e exportadores de milho do mundo. No entanto, sementes de milho são susceptíveis a vários fitopatógenos que provocam prejuízos durante as fases de produção. O uso de defensivos químicos é o principal método empregado no manejo aos patógenos, porém, o uso indiscriminado provoca sérios impactos ambientais, sociais e econômicos, o que torna necessário o desenvolvimento de métodos alternativos para conciliar a produção de alimentos seguros, a preservação ambiental e a viabilidade econômica. O objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial inibitório do óleo essencial de cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*) sobre fungos fitopatogênicos *in vitro* e em sementes de milho. Para tanto, foram realizados experimentos laboratoriais em delineamentos inteiramente casualizados (DIC). No teste *in vitro*, o óleo essencial foi incorporado ao meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar) e vertido em placas de Petri. Os tratamentos foram compostos pela adição do óleo ao meio de cultura em diferentes concentrações (0,0125; 0,025; 0,05; 0,1 e 0,2%), além de uma testemunha negativa (0,0%) e uma positiva que constou da aplicação suplementar do fungicida Tiram. As placas foram inoculadas com os fungos *Fusarium verticillioides*, *Macrophomina phaseolina* e *Macrophomina pseudophaseolina* e incubadas durante sete dias a 27±2°C. As variáveis estimadas foram: porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) e índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM). No teste *in vivo*, sementes do milho híbrido AG 1051 foram tratadas por imersão em soluções de água destilada autoclavada contendo o óleo essencial em concentrações iguais ou superiores à concentração inibitória mínima determinada no teste *in vitro*, além da testemunha negativa e a testemunha positiva. Em seguida realizou-se a inoculação por meio da deposição das sementes sobre colônias dos fungos, as quais foram cultivadas em placas de Petri em meio de cultura BDA. As sementes permaneceram em contato com as colônias fúngicas durante 32 horas. Por fim as sementes foram submetidas a um teste sanidade pelo método de papel filtro com congelamento. As avaliações foram realizadas examinando-se as sementes em microscópio estereoscópico e os fungos identificados por meio das características morfológicas de suas estruturas. Em condições *in vitro*, o óleo essencial de cravo da Índia inibiu o crescimento micelial de *F. verticillioides*, *M. phaseolina* e *M. pseudophaseolina*. A inibição total do crescimento micelial (PIC = 100%) ocorreu na concentração de 0,05% para o fungo *F. verticillioides* e de 0,1% para *M. phaseolina* e *M. pseudophaseolina*, em condições *in vitro*. O óleo essencial de cravo da Índia na concentração de 0,2% reduziu significativamente a incidência das colônias dos fungos *M. phaseolina* e *M. pseudophaseolina* em sementes de milho híbrido AG 1051.

Palavras-chave: *Syzygium aromaticum*, *Zea mays*, controle alternativo, efeito fungitóxico.

ABSTRACT

The maize (*Zea mays* L.) is an important cereal due to its extensive use as human and animal staple food. Brazil is one of the largest producers and exporters of maize in the world. However, these seeds are susceptible to several phytopathogens, which cause damage during the production stages. The use of chemical pesticides is the main method used in the management of pathogens. However, indiscriminate use causes serious environmental, social and economic impacts, making necessary the development of alternative methods to reconcile safe food production, environmental preservation, and economic viability. This study evaluates the inhibitory potential of the clove essential oil (*Syzygium aromaticum*) on phytopathogenic fungi *in vitro* and on maize seeds. For this, laboratory experiments were carried out under completely randomized designs. In the *in vitro* test, the essential oil was incorporated into the PDA (Potato-Dextrose-Agar) culture medium and poured into Petri dishes. The treatments comprised different concentrations of the oil (0.0125, 0.025, 0.05, 0.1, and 0.2%), a negative control (0.0%), and a positive control consisting of the addition of the Tiram fungicide. Plates were inoculated with the fungi *Fusarium verticillioides*, *Macrophomina phaseolina*, and *Macrophomina pseudophaseolina* and incubated for seven days at $27\pm 2^{\circ}\text{C}$. The estimated variables were: percentage of mycelial growth inhibition (PGI) and mycelial growth rate index (MGRI). In the *in vivo* test, maize seeds (AG 1051 hybrid) were treated by immersion in solutions of autoclaved distilled water with the essential oil on concentrations equal or superior to the minimum inhibitory concentration found in the *in vitro* test, besides the negative and positive controls. After that, the seeds were inoculated by deposition on fungi colonies, which were cultivated in Petri dishes in BDA culture medium. The seeds remained in contact with the fungal colonies for 32 hours. Finally, the seeds were submitted to sanity test by the filter paper method with freezing. The evaluations were performed by examining the seeds under a stereoscopic microscope and the fungi identified through the morphological characteristics of their structures. Under *in vitro* conditions, clove essential oil inhibited the mycelial growth of *F. verticillioides*, *M. phaseolina* and *M. pseudophaseolina*. Total inhibition of mycelial growth (PGI = 100%) occurred at the concentration of 0.05% for the fungus *F. verticillioides* and 0.1% for *M. phaseolina* and *M. pseudophaseolina*, under *in vitro* conditions. The clove essential oil at 0.2% concentration significantly reduced the incidence of colonies of fungi *M. phaseolina* and *M. pseudophaseolina* in hybrid corn seeds AG 1051.

Keywords: *Syzygium aromaticum*, *Zea mays*, alternative control, fungitoxic effect.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Informações disponíveis pela empresa Agrocères referente ao híbrido AG 1051.....	29
Tabela 2. Concentrações inibitórias mínimas do óleo essencial de cravo da Índia frente a diferentes fungos fitopatogênicos.....	32
Tabela 3. Média dos índices de velocidade de crescimento micelial ($\text{cm dia}^{-1} \pm \text{DP}$) de fungos fitopatogênicos na concentração inibitória mínima do óleo essencial de cravo da Índia.....	33

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Efeito das diferentes concentrações do óleo essencial de cravo da índia sobre o crescimento micelial de fungos fitopatogênicos..... 31
- Figura 2.** Porcentagem de inibição de crescimento de fitopatógenos em diferentes concentrações do óleo essencial de cravo da índia..... 32
- Figura 3.** Porcentagem da incidência de colônias de fitopatógenos em diferentes concentrações do óleo essencial de cravo da índia em sementes de milho híbrido AG 1051..... 36

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1. A CULTURA DO MILHO E DOENÇAS FÚNGICAS	13
2.1.1. <i>Fusarium verticillioides</i> (Sacc.) Nirenberg	15
2.1.2. <i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) Goidanich e <i>Macrophomina pseudophaseolina</i> Crous	17
2.2. CONTROLE DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS EM SEMENTES DE MILHO	18
2.2.1. Controle Químico	19
2.2.2. Métodos Alternativos	20
2.3. ÓLEOS ESSENCIAIS	22
2.3.1. Óleo essencial de cravo da Índia (<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merrill & Perry)	24
3. MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1. EXPERIMENTO <i>IN VITRO</i>	27
3.2. EXPERIMENTO <i>IN VIVO</i>	28
3.3. Análise estatística <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	30
4. RESULTADOS	31
4.1. Inibição do crescimento micelial de fungos fitopatogênicos <i>in vitro</i>	31
4.2. Incidência de fitopatógenos em sementes de milho.....	33
5. DISCUSSÃO	35
6. CONCLUSÕES.....	39
7. REFERÊNCIAS	40

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é um cereal extensamente utilizado na alimentação humana e animal, sendo amplamente cultivado e consumido em praticamente todo o planeta (SANTOS *et al.*, 2016). Além disso, o milho apresenta versatilidade de uso nos sistemas de produção, possuindo uma vasta gama de utilizações, desde o consumo humano e animal *in natura*, até a produção de subprodutos por grandes indústrias de diversas áreas, como: farmacêutica, química, bebidas, combustível e alimentícia que transforma o grão em margarina, amido, farinha, fubá, farelo, óleo, xarope de glicose e flocos para cereais matinais (MELO *et al.*, 2010; REGITANO-D'ARCE *et al.*, 2015; SILVEIRA *et al.*, 2015).

O Brasil é o terceiro maior produtor e exportador de milho de acordo com o 11º levantamento do USDA referente à safra mundial de milho 2018/2019, sendo responsável por 94,5 milhões de toneladas da produção mundial na safra de 2018/19, perdendo apenas para os Estados Unidos e a China, com valores de produção de 366,3 e 257,3 milhões de toneladas, respectivamente. O volume de exportação de milho do Brasil subir 14,2% entre as safras 2017/18 e a 2018/19, com expectativas de exportação de 29,0 milhões de toneladas, atrás apenas dos Estados Unidos e Argentina, com valores de exportação de 60,3 e 30,0 milhões de toneladas, respectivamente (USDA, 2019).

Sementes de milho são susceptíveis a vários fitopatógenos que provocam prejuízos durante as fases de produção, especialmente no período de estabelecimento da cultura. A presença de patógenos ocasiona o enfraquecimento de plântulas e reduz a população de plantas durante as etapas iniciais do desenvolvimento (RAMOS *et al.*, 2014). As doenças reduzem a qualidade das sementes e causam grandes perdas de rendimento, somente nos EUA, estimativas de perdas anuais de doenças para a produção de milho variam de 2% a 15% (MUNKYOLD; WHITE, 2016). Muitas doenças provocadas nas sementes são causadas por fungos, por exemplo: a podridão do colmo e podridão rosada da espiga são causadas pelo fungo *Fusarium verticillioides* (AMORIM *et al.*, 2011) e a podridão seca por *Macrophomina phaseolina* e *Macrophomina pseudophaseolina* (EMBRAPA 2006; SARR *et al.*, 2014).

Além disso, as sementes podem atuar como vetores, transmitindo doenças de plantações contaminadas para áreas anteriormente livres do patógeno (CASA *et al.*, 2005). Esses fungos sobrevivem em restos de culturas e em sementes na forma de micélios, conídios e esclerócios, que posteriormente causam doenças na cultura (EMBRAPA, 2009). No Brasil, 100% das sementes de milho são tratadas com fungicidas e 85% com inseticidas, sendo recomendado também o uso de sementes de alta qualidade sanitária, reduzindo a incidência e

disseminação de agentes patogênicos tanto no campo como no armazenamento (JULIATTI, 2010; NUNES, 2010).

No campo, os problemas fitossanitários são minimizados através do sistema convencional de produção agrícola (MARIANI *et al.*, 2015). Esse modelo de agricultura é baseado no emprego de fertilizantes e defensivos químicos com alta toxicidade que causam uma série de danos ambientais como o acúmulo de substâncias nocivas no solo e na água, ocasionando desequilíbrios biológicos e ecológicos (TAKESHITA *et al.*, 2014), além de vários problemas à saúde humana (PERINA, 2014). O uso indiscriminado destes insumos pode favorecer também o surgimento de patógenos resistentes, sendo necessário a aplicação progressiva de agroquímicos mais fortes que causarão danos ainda mais significativos (SILVA *et al.*, 2012).

Neste contexto, muitos pesquisadores têm se empenhado na busca de produtos naturais que apresentem na composição substâncias com propriedades fungitóxicas e que possam ser aplicados no controle de agentes patogênicos prejudiciais as culturas, porém sejam menos agressivos à saúde humana e ao meio ambiente. Dentre os produtos naturais com estas características encontram-se os óleos essenciais, os quais são compostos complexos gerados a partir de metabólitos secundários de plantas (BIZZO *et al.*, 2009). Vários destes óleos possuem baixa toxicidade a humanos, podendo ser utilizados com relativa segurança (VIGAN, 2010; RAUT; KARUPPAYIL, 2014).

A utilização de compostos químicos menos tóxicos pode reduzir a necessidade da aplicação de agrotóxicos, o que gera benefícios para o meio ambiente e para a saúde dos produtores e consumidores de alimentos. Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial do óleo essencial de cravo da Índia no controle dos fungos *Fusarium verticillioides*, *Macrophomina phaseolina* e *Macrophomina pseudophaseolina* em sementes de milho.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A CULTURA DO MILHO E DOENÇAS FÚNGICAS

A cultura do milho (*Zea mays* L.) é originária da América do Norte, com centro de origem genética no México (SILVEIRA *et al.*, 2015). É uma cultura herbácea e monoica, pertencente à família Poaceae, apresentando ciclo de cultivo variado, com cultivares concluindo o ciclo entre 110 a 180 dias nas condições ambientais do Brasil (LUÍS, 2014). Este cereal destaca-se como insumo destinado tanto para o consumo humano como para o animal (MELO *et al.*, 2010).

O grão tem grande importância econômica devido seu valor nutricional e pela ampla versatilidade na utilização (GALVÃO *et al.*, 2014). No consumo *in natura* para alimentação animal destacam-se os setores da avicultura e suinocultura, os quais responsáveis por 25,8% e 13,6% do consumo nacional do grão (JÚNIOR; LIMA, 2018). Além do consumo *in natura*, o milho é utilizado em diversas finalidades, desde sua utilização na produção de biocombustíveis, até seu uso na indústria de alta tecnologia, sendo transformado em margarina, amido, farinha, óleo, xarope de glicose e flocos para cereais matinais (SOUSA *et al.*, 2012; SILVEIRA *et al.*, 2015).

A cultura do milho é uma das mais importantes commodities para o Brasil, responsável por 29,0 milhões de toneladas das exportações na safra de 2018/19 (USDA, 2019). Entre as regiões, o Centro-Oeste é considerado o maior produtor, com produção de 48.987,3 mil toneladas, seguido pelo Sul (23.642,3 mil t), Sudeste (11.219,2 mil t), Nordeste (6.184,3 mil t) e o Norte (2.774,4 mil t). Dentre os estados, o Mato Grosso detém a maior parte da produção, com 29.300,1 mil toneladas, seguido do Paraná (15.160,8 mil t), Goiás (9.874,1 mil t) e Mato Grosso do Sul (9.335,8 mil t) (CONAB, 2019). Em relação ao consumo, 52% da demanda do milho atual é destinada ao consumo animal, enquanto que o consumo humano é inferior a 2%. (ABIMILHO, 2018).

O cereal tem ainda grande importância sociocultural no país, fazendo parte da tradição e cultura alimentar, principalmente na região Nordeste que possui uma vasta área abastecendo a região com milho produzido próximo ao local de consumo, tendo como maior produtor o Maranhão com a produção alcançando 1.827,2 mil toneladas na safra de 2018/19, seguido pelo estado da Bahia (1.650,6 mil/t), Piauí (1.562,8 mil/t), Sergipe (576,0 mil/t) sendo este o estado com a maior produtividade do Nordeste (4.028 kg/ha), enquanto que Ceará,

Pernambuco, Paraíba, Alagoas e Rio Grande do Norte produzem uma quantidade modesta do grão, porém com capacidade de disponibilizar fonte de energia e renda para muitas pessoas que vivem no semiárido (JÚNIOR; LIMA, 2018; CONAB, 2019).

A incidência e a severidade de doenças na cultura têm aumentado significativamente ao longo dos anos em decorrência de diversos fatores como as mudanças climáticas globais, época de plantio (primeira época - safra de verão; e segunda época - safrinha), expansão da área cultivada, alterações no sistema de cultivo, plantios consecutivos e ausência de rotação de culturas (JARDINE; LACA-BUENDÍA, 2009). Sob condições edafoclimáticas favoráveis, essas mudanças têm propiciado a multiplicação e sobrevivência de vários patógenos, que contribuem com o desenvolvimento de diversas doenças e comprometem a qualidade e a produção de grãos e sementes (JULIATTI *et al.*, 2010).

Alguns organismos edáficos considerados patógenos constituem um dos principais problemas fitossanitários para diversas plantas cultivadas no Brasil e no mundo (MICHEREFF *et al.*, 2005), provocando perdas na produção e reduzindo a rentabilidade econômica (BRUM *et al.*, 2014). Fungos fitopatogênicos que habitam o solo ou que vivem saprofiticamente sobre restos de material vegetal têm se tornado um dos principais fatores limitantes do cultivo de diferentes culturas, com potencial de causar perdas econômicas significativas (AMORIM *et al.*, 2011).

Os agentes patogênicos são responsáveis por provocarem prejuízos aos produtores em função do controle de doenças, somente nos EUA, cerca de 23,5 bilhões de dólares foram gastos com controle de doenças por ano (ROSSMAN, 2009). O prejuízo econômico médio estimado devido a doenças na cultura do milho nos Estados Unidos, Canadá e Ontário, de 2012 a 2015 foram de U\$76,51 por acre, com produção total de quase 54 bilhões de alqueires (MUELLER *et al.*, 2016), para a Ásia as estimativas de perdas ficaram em torno de 12% (MAHUKU, 2010).

A cultura do milho é atacada por alguns patógenos que causam diversas doenças como a podridão-do-colmo e podridão rosada da espiga, causada por *Fusarium verticillioides*, e a podridão-seca-do-colmo, causada por *Macrophomina phaseolina* e *Macrophomina pseudophaseolina*. Estas doenças são transmitidas entre lavouras de diversas maneiras, sendo o uso de sementes contaminadas o principal meio de dispersão, além da disseminação dos conídios e esclerócios através do vento ou da chuva (EMBRAPA, 2006; EMBRAPA, 2009).

As sementes são consideradas um dos meios mais eficientes de disseminação de agentes patogênicos, introduzindo doenças em áreas anteriormente isentas (CASA *et al.*

2005). Através das sementes, os patógenos podem ser transportados a longas distâncias, sendo dispersos entre lavouras, municípios, estados, países e até continentes (REIS; CASA, 2007). Fungos como o *F. verticillioides* e a *M. phaseolina*, sobrevivem em restos de culturas e em sementes na forma de conídios e esclerócios, provocando posteriormente doenças como as podridões na cultura (WORDELL FILHO *et al.*, 2016; EMBRAPA, 2009). O uso de sementes de alta qualidade sanitária, além do tratamento das mesmas é recomendado como medida de controle. No Brasil, 100% das sementes de milho são tratadas com fungicidas e 85% com inseticidas (JULIATTI, 2010; NUNES, 2010).

Denti *et al.* (2003), Casa *et al.* (2005) e Ribeiro *et al.* (2005) relataram que podridões da base do colmo em milho detectadas em áreas onde a cultura nunca havia sido cultivada, ou em áreas de rotação de culturas, podem ter nas sementes sua fonte de inóculo, uma vez que os agentes causais dessas doenças apresentam baixa gama de hospedeiros secundários e estruturas reprodutivas de difícil disseminação pelo vento a longas distâncias.

2.1.1. *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg

Alguns dos principais problemas ocasionados por fungos na cultura do milho ocorrem durante o estabelecimento da cultura. Nesse período as sementes são susceptíveis ao ataque de diversos patógenos, os quais ocasionam redução na população de plantas e enfraquecimento de plântulas durante as etapas iniciais de seu desenvolvimento (CAPPELINI *et al.* 2005).

O *Fusarium verticillioides* (Sacc.) causa sérios problemas na fase de estabelecimento da cultura em campo, por exemplo: redução na qualidade fisiológica das sementes (MACHADO, 1988; MENTEN, 1991), tombamento de plântulas, redução no estande de plantas no campo (TANAKA; BALMER, 1980), inibição do desenvolvimento das raízes de plântulas (FUTRELL; KILGOORE, 1969; BACON *et al.*, 1994) e redução na germinação de sementes (CARVALHO *et al.*, 1992).

A sobrevivência deste fungo no solo se dá por meio de estruturas de resistência e, também, em estruturas internas das sementes, como o embrião (COSTA *et al.*, 2003). O fungo sobrevive ainda em restos culturais, sendo favorecido quando existem ferimentos causados por nematoides e pragas subterrâneas. A disseminação dos esporos ocorre pelo vento ou pela chuva, podendo ser depositados nas bainhas das folhas, posteriormente infectando os nós. O controle desse patógeno é feito principalmente pelo tratamento químico de sementes auxiliado pela diagnose preventiva antes da semeadura, além de evitar semeaduras em solos úmidos, frios e mal drenados (WORDELL FILHO *et al.*, 2016).

Dentre as espécies do gênero *Fusarium* associadas a doenças do milho, *F. verticillioides* apresenta alta capacidade de infectar sementes e plântulas (SARTORI *et al.*, 2004). Este patógeno é o agente causal responsável por podridões, tanto no colmo como nas espigas e grãos, causando elevadas perdas econômicas, diminuindo a produtividade e a qualidade de sementes de milho e outros cereais (BRODERS *et al.*, 2007). Além disso, o *F. verticillioides* produz micotoxinas comuns em alimentos e rações a base de milho, ameaçando à saúde humana e animal (MUNHOZ *et al.*, 2015).

A podridão do colmo ocorre principalmente após a polinização, quando esta fase é antecedida por período seco e seguida por período chuvoso, se tornando mais severa de acordo com o amadurecimento da planta. Os sintomas compreendem alteração na cor da medula, que passa por várias mudanças de descoloração esbranquiçada, rosa claro a salmão, até se tornar marrom. Em estádios mais avançados da doença, pode ocorrer o amadurecimento prematuro e quebra do colmo (PEREIRA *et al.*, 2005). Geralmente o patógeno afeta as raízes e os internódios inferiores, podendo também atingir os internódios superiores e causar podridão da espiga, afetando o enchimento de grãos (ROSA JR., 2010). Para reduzir a utilização de agroquímicos, a incidência da doença pode ser controlada utilizando-se cultivares resistentes, adubação equilibrada e densidade de plantio adequada (EMBRAPA, 2006).

Em relação a podridão rosada da espiga, os sintomas geralmente aparecem em grãos isolados ou em um grupo de grãos e, em casos raros, pode ocorrer em toda a espiga. No decorrer do desenvolvimento da doença, uma massa cotonosa avermelhada pode recobrir os grãos infectados. Alguns fatores favorecem a infecção dos grãos, exemplo disso são os danos mecânicos ou provocados por insetos e rachaduras no pericarpo. O desenvolvimento do patógeno nas espigas se torna estático quando o teor de umidade dos grãos alcança 18 a 19%. Também com o objetivo de reduzir a aplicação de fungicidas, o controle da podridão pode ser realizado através do manejo integrado, utilizando cultivares resistentes, sementes de boa qualidade sanitária e efetuando-se a destruição de restos culturais de plantas infectadas, além da rotação de culturas (EMBRAPA, 2009; EMBRAPA, 2006).

Os grãos infectados podem apresentar sintomas de descoloração no campo, sendo denominados de grãos ardidos. A incidência desses grãos reduzem o peso de grãos produzidos, além de ser responsável por um dos principais problemas de qualidade do milho, em decorrência da presença de micotoxinas, como fumonisinas e vomitoxinas causadas pelo fungo *F. verticillioides*, desvalorizando o produto e ameaçando à saúde humana e animal.

Algumas agroindústrias empregam um padrão de qualidade com tolerância máxima de 6% para grãos ardidos em lotes comerciais do cereal (EMBRAPA, 2013; EMBRAPA, 2009).

2.1.2. *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidanich e *Macrophomina pseudophaseolina* Crous

Fungos do gênero *Macrophomina* são considerados patógenos polípagos. Causam doenças em mais de 500 espécies cultivadas e não cultivadas, incluindo hospedeiros economicamente importantes, como soja, feijão-comum, milho, sorgo, feijão-caupi, amendoim e algodão (NDIAYE *et al.*, 2010). Apresentam distribuição mundial, porém causam maior dano econômico em países subtropicais e tropicais com climas semiáridos (WRATHER *et al.*, 2001).

Macrophomina phaseolina (Tassi) Goidanich habita no solo e tem causado significativas perdas econômicas a nível mundial (KAUR *et al.*, 2012). A espécie possui ampla gama de hospedeiros, podendo infectar mais de 500 espécies de plantas em mais de 100 famílias botânicas, incluindo as principais culturas agrícolas (WYLLIE *et al.*, 1988; SU *et al.*, 2001; MAYEK-PÉREZ *et al.*, 2001; RAGUCHANDER *et al.*, 1993; ALY *et al.*, 2007).

Apesar de habitar o solo, *M. phaseolina* pode alcançar outras áreas através da dispersão por sementes contaminadas (MENEZES *et al.*, 2013). Mesmo em condições adversas, esse fungo possui elevada capacidade de sobrevivência em decorrência da sua alta capacidade saprofítica e desenvolvimento de microescleródios, podendo permanecer no solo por vários anos. O fungo ocasiona sérios problemas em diversas culturas, como a podridão seca do colmo em milho, podridão do carvão na soja e podridão cinzenta da haste no feijão comum (GUPTA *et al.*, 2012; EMBRAPA, 2006; EMBRAPA, 2013).

Na cultura do milho, este fungo é responsável por causar a podridão seca do colmo. Os sintomas ocorrem através de uma infecção que se inicia pelas raízes, sendo visíveis nos entrenós inferiores após a polinização. Na parte interna, o tecido da medula se desintegra, permanecendo intactos apenas os vasos lenhosos, onde é possível constatar a presença de muitos pontinhos negros que conferem internamente ao colmo uma cor cinza. Como forma de controle não químico, é recomendado o uso de cultivares resistentes, adubação e irrigação adequada, além de evitar altas densidades no período da semeadura (EMBRAPA, 2006).

M. phaseolina é o agente etiológico da podridão cinzenta da haste e podridão do carvão, sendo o principal representante do gênero (PHILLIPS *et al.*, 2013; SLIPPERS *et al.*, 2013).

As doenças causam podridões das raízes e caule (KUNWAR *et al.*, 1986; WRATHER *et al.*, 1997; SALEH *et al.*, 2010), provocando a redução no estande das plantas no campo, baixa qualidade de sementes, maturação precoce das plantas e morte (ABAWI; PASTOR-CORRALES, 1990). Este fungo é considerado como um dos patógenos mais agressivos nas regiões tropicais e subtropicais, principalmente nas condições ambientais de climas áridos e semiáridos do Nordeste brasileiro, uma vez que é favorecido pelo clima quente e seco dessas regiões (GUPTA *et al.*, 2012; RADWAN *et al.*, 2014).

Uma vez que *M. phaseolina* é um patógeno polífago e com elevada persistência no solo, tanto a podridão cinzenta da haste como a podridão do carvão são doenças difíceis de serem manejadas (MICHEREFF *et al.*, 2005; MUCHERO *et al.*, 2011). Um dos métodos mais empregados no controle desse patógeno é o uso de cultivares resistentes (MACHADO, 1980), sendo na maioria dos casos um dos métodos mais eficientes para o manejo de patógenos, além de reduzir os impactos ambientais, devido redução das aplicações de defensivos agrícolas (CAMARGO; BERGAMIN FILHO, 2011).

Recentemente, com base em 189 isolados previamente identificados morfológicamente como *M. phaseolina*, Sarr *et al.* (2014) descreveram uma nova espécie deste gênero, *Macrophomina pseudophaseolina* Crous, Sarr e Ndiaye ocorrendo em quiabo (*Abelmoschus esculentus*), amendoim (*Arachis hypogaea*), vinagreira (*Hibiscus sabdariffa*) e feijão-de-corda (*Vigna unguiculata*). Morfológicamente as duas espécies são bem semelhantes, a diferença reside nos conídios, pois estes são mais curtos em *M. pseudophaseolina* (SARR *et al.*, 2014). Esta descoberta sugere que relatos antigos de contaminações atribuídas a *M. phaseolina*, na verdade, podem ter sido causadas por *M. pseudophaseolina*.

Ndiaye *et al.* (2015), estudaram a patogenicidade de *M. pseudophaseolina* em três cultivares de feijão-caupi: Apagbaala (resistente), IT93K-501-1(moderadamente resistente), e Mouride (susceptível) sob dois regimes de temperatura. Estes autores observaram que esta nova espécie é mais agressiva na cultivar suscetível do que a *M. phaseolina*, em função de apresentar mais microsclerócios por grama de tecido e menor produção de biomassa na temperatura mais alta testada (36/26°C). Todavia, os autores concluíram que apesar de haver uma maior agressividade de *M. pseudophaseolina* em relação a *M. phaseolina*, o manejo da podridão causada por ambas as espécies deve ser o mesmo.

2.2. CONTROLE DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS EM SEMENTES DE MILHO

O controle de fungos fitopatogênicos geralmente é feito através da integração de diversas práticas: instalação da sementeira em área livre do agente patogênico, espaçamento e manejo da irrigação adequado, locais ensolarados, ventilados e com boa drenagem. Outra forma de realizar o controle é utilizando sementes de boa qualidade fitossanitária, tratadas com fungicidas registrados para o fungo, além do tratamento do solo por via física (solarização), química (aplicação de fungicidas) ou outra prática comprovadamente capaz de reduzir ou eliminar a população do fitopatógeno (ZAMBOLIM *et al.*, 1997).

2.2.1. Controle Químico

O uso de fungicidas ainda é o principal método empregado no controle de fungos fitopatogênicos no Brasil (GOULART *et al.*, 2011). Esta prática é adotada na maioria das áreas de cultivo onde ocorrem doenças causadas por fungos, sendo a maioria dos fungicidas registrados pertencentes aos grupos dos triazóis, estrobilurinas e benzimidazóis (WORDELL FILHO *et al.*, 2016). Os fungicidas podem ser classificados de acordo com o seu modo de ação contra o fitopatógeno: protetores ou de contato e sistêmicos (ZAMBOLIM *et al.*, 1995; KIMATI, 1995).

Fungicidas protetores ou de contato são aplicados antes da penetração do patógeno no hospedeiro, objetivando impedir ou reduzir o ataque da doença. Podem ser aplicados na superfície de órgãos vegetais, agindo como uma barreira tóxica, protegendo o tecido vegetal da penetração de fungos através da inibição da germinação dos esporos e desenvolvimento do tubo germinativo (ZAMBOLIM *et al.*, 1995),

Fungicidas sistêmicos são aqueles em que o princípio ativo é absorvido pela planta e translocado para partes distantes do local de aplicação. Os fungicidas sistêmicos atuam de forma a suprimir o estabelecimento da infecção causada por patógenos nos tecidos do hospedeiro, inibindo o crescimento micelial e a esporulação de fungos sobre as plantas (ZAMBOLIM *et al.*, 1997).

Alguns patógenos, especialmente espécies do gênero *Fusarium*, podem se utilizar das sementes de plantas para se dispersarem, sendo o transporte de sementes infectadas uma das principais causas da introdução de fungos patogênicos em áreas isentas (CASA *et al.*, 2005). O tratamento químico com fungicidas é uma das maneiras mais eficientes de reduzir os danos causados pela associação de fungos fitopatogênicos com as sementes (CARVALHO *et al.*, 2011).

O controle químico de patógenos muitas das vezes é uma técnica ineficiente e pouco econômica, provocando sérios impactos sobre o meio ambiente, causando a contaminação dos solos e fontes de recursos hídricos, bem como efeitos letais e subletais sobre organismos não alvo, principalmente inimigos naturais de diferentes pragas. Além disso, o uso contínuo desses produtos pode favorecer o surgimento de linhagens dos fitopatógenos resistentes às substâncias químicas utilizadas (DITILLO *et al.*, 2016; DAWOUD *et al.*, 2017; FLORES *et al.*, 2014; WAINWRIGHT, 1977; ELSKUS *et al.*, 2016; WAINWRIGHT; PUGH, 1975).

O uso intensivo e indiscriminado de produtos químicos tem se tornado um grave problema de saúde pública, sendo responsável por intoxicações em diferentes graus, afetando tanto famílias agricultoras, que são expostas frequentemente as substâncias, quanto os consumidores finais (CASSAL *et al.*, 2014). Análise de amostras coletadas pelo Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) da Anvisa, em todos os 26 estados do Brasil, relata que um terço dos alimentos consumidos diariamente pelos brasileiros está contaminada por esses defensivos, responsáveis por causarem problemas neurológicos, reprodutivos, de desregulação hormonal e até câncer (ANVISA, 2011).

De acordo com a pesquisa do Instituto Nacional de Câncer (INCA), o comércio de agrotóxicos no Brasil saltou de US\$ 2 bilhões para mais de US\$7 bilhões entre os anos de 2001 e 2008, alcançando valores recordes de US\$ 8,5 bilhões em 2011. Em 2009 o país ultrapassou a marca de 1 milhão de toneladas, alcançando a posição de maior consumidor mundial de agrotóxicos (INCA, 2015). Em relação as categorias dos produtos comercializados no mercado nacional, 45% correspondem ao uso de herbicidas, 14% para os fungicidas, 12% aos inseticidas e 29% as demais classes de agrotóxicos (ANVISA; UFPR, 2012).

2.2.2. Métodos Alternativos

Visando diminuir a dependência dos defensivos químicos, métodos alternativos para o controle de doenças em plantas, tem por finalidade conciliar a produção de alimentos seguros, a preservação ambiental e a viabilidade econômica (FAROOQ *et al.*, 2011). Estratégias como o manejo integrado (PAULA JÚNIOR *et al.*, 2008), controle biológico (AKILA *et al.*, 2011), resistência genética (MICHEREFF *et al.*, 2005) e o uso de óleos essenciais (OOTANI, 2013) são algumas dessas alternativas que exercem importante papel social, ambiental e econômico (MARIANI; HENKES, 2015).

O manejo integrado de doenças em plantas contempla várias medidas para reduzir a incidência ou severidade e manter o potencial produtivo das culturas. O uso de variedades

resistentes, medidas de exclusão, fungicidas químicos, adubação verde, cultivares resistentes, rotação de culturas e controle biológico são algumas dessas medidas (PAULA JÚNIOR *et al.*, 2008).

Um método amplamente estudado para o controle de fitopatógenos é o controle biológico, feito através do uso de microrganismos antagonistas (AKILA *et al.*, 2011; SNEH, 1981; THANGAVELU; GOPI, 2015). O controle biológico pode ser definido como o controle de um microrganismo através da ação direta de um outro microrganismo antagônico, o qual pode atuar por meio de antibiose, parasitismo, competição, predação ou hipovirulência (COOK; BAKER, 1983). O gênero *Trichoderma* Pers. (Hypocreales: Hypocreaceae) é o grupo de agentes de controle biológico de fungos fitopatogênicos mais estudado e utilizado devido a sua capacidade de controle de fitopatógenos (VINALE *et al.*, 2008; DOLEY; JITE, 2012; GAJERA *et al.*, 2012; KUMAR *et al.*, 2012; ADEKUNLE *et al.*, 2010).

As características fundamentais que fazem desses microrganismos os principais antagonistas de diversos fungos fitopatogênicos são: o rápido crescimento micelial, alta produção de conídios, produção de metabólitos e enzimas com propriedades antifúngicas, o hiperparasitismo e a capacidade de viver de diversas formas (saprotrófica, simbiótica ou micoparasita) (HARMAN *et al.*, 2004; SAMUELS, 2006).

Determinadas espécies de *Trichoderma* interferem no desenvolvimento dos fitopatógenos por diversos mecanismos de ação como a competição por espaço e nutrientes, a antibiose, o micoparasitismo, a fungistase e a indução de resistência (BENÍTEZ *et al.*, 2004). Estes agentes de biocontrole são antagonistas eficazes de alguns dos mais importantes fungos fitopatogênicos: *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium* spp. e *Pythium* spp. (MELO, 1998).

Alguns produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas também estão sendo avaliados quanto à eficácia no controle de fitopatógenos de solo (BETTIOL, 2012). O produto Compost Aid®, conforme informação do fabricante, é um inoculante resultante da mistura de enzimas e bactérias (*Lactobacillus plantarum*, *Bacillus subtilis* e *Enterococcus faecium*) que aceleram o processo de compostagem, de forma natural, convertendo materiais orgânicos em um composto com baixa relação C:N, auxiliando na diminuição da severidade de doenças cujos patógenos sofram competição de microrganismos habitantes do solo (BELLOTTE, 2006). O emprego desses microrganismos representa uma possível alternativa para controle de fungos fitopatogênicos, uma vez que não são tóxicos ao homem e animais (MERTZ *et al.*, 2009).

A resistência genética destaca-se como uma ferramenta extremamente útil no manejo de doenças causadas por fitopatógenos de sementes. O controle genético desses parasitas deve ter sido praticado inconscientemente pelos primeiros agricultores, ao selecionarem materiais por vezes mais produtivos por serem menos suscetíveis às doenças radiculares (MICHEREFF *et al.*, 2005).

A exploração da atividade biológica de compostos presentes no extrato bruto ou óleo essencial de algumas espécies de plantas vem sendo amplamente estudada como um potencial para o controle alternativo de doenças em plantas cultivadas (SANTAMARINA *et al.*, 2017; WAITHAKA *et al.*, 2017; ALAM *et al.*, 2017; LOPEZ-REYES *et al.*, 2013; AMMAD *et al.*, 2018).

2.3. ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais são líquidos naturais, na sua maioria altamente voláteis, derivados do metabolismo secundário de plantas aromáticas, possuindo substâncias químicas variadas e funções diversas (KOKETSU; GONÇALVES, 1991; MONTEIRO *et al.*, 2014). Eles ocorrem em várias espécies de plantas, em suas diferentes partes, como botões, pétalas de flores, cascas, folhas, caules, sementes, raízes e cascas de resina ou frutas (RATHORE, 2017). Estes compostos possuem aroma e/ou sabor característico, sendo constituídos majoritariamente por terpenos ou seus derivados, responsáveis por evitar injúrias ocasionadas por agentes externos, e apresentando atividade antimicrobiana reconhecida (FELIPE; BICAS, 2017).

Esses produtos naturais, além de apresentarem características físico-químicas significativas com alto valor agregado, promovem uma sustentabilidade ecológica importante, demonstrando ainda consideráveis atividades biológicas como ações antioxidantes, anticancerígenas (ADORJAN; BUCHBAUER, 2010), larvicidas (VORIS *et al.*, 2017), acaricidas (SOUZA *et al.*, 2016), bactericidas (SOUZA *et al.*, 2016), inseticidas (TRIPATHI *et al.*, 2009) e antifúngicas (BRITO *et al.*, 2015).

Os óleos essenciais com atividade inseticida, antifúngica e antimicrobiana mais conhecidos e estudados a nível mundial são: óleo de citronela (*Cymbopogon winterianus* e *Cymbopogon nardus*) (MARULANDA *et al.*, 2017), óleo de mamona (*Ricinus communis* L.) (GAHUKAR; MITAL, 2017), óleo de canela (*Cinnamomum* sp.) (HADDI *et al.*, 2017), óleo de eucalipto (*Eucalyptus melliodora*) (RATHORE; NOLLET, 2017), óleo de Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) (KHANAM *et al.*, 2017) e óleo de cravo da índia [*Syzygium aromaticum* (L.) Merrill & Perry] (GIRISGIN, 2017). A ação destes e outros óleos essenciais

no controle de fungos fitopatogênicos tem sido estudada a vários anos, sendo demonstrado alto nível de sucesso como relatado nos trabalhos citados a seguir.

Freddo *et al.* (2016) avaliaram o potencial do uso do óleo essencial de erva-luísia (*Aloysia citriodora*) em diferentes concentrações no controle de *Fusarium* sp. Seus resultados demonstraram que o óleo essencial possui efeito fungistático e fungicida sobre o crescimento micelial e na germinação de conídios de *Fusarium* sp. Além de relatarem que o efeito é maior em função do aumento da concentração do óleo.

Nonato *et al.* (2009) avaliaram a atividade do óleo-resina de copaíba (*Copaifera reticulata* Ducke) em diferentes concentrações no crescimento micelial *in vitro* de fitopatógenos, dos gêneros *Phomopsis*, *Colletotrichum* e *Phytophthora*. Estes autores constataram que todas as concentrações utilizadas para o controle do crescimento micelial dos patógenos *Phytophthora* sp. e *C. gloeosporioides* mostraram-se eficientes em relação à testemunha negativa, entretanto para o fungo *Phomopsis* sp. as concentrações utilizadas foram eficientes, porém sua eficácia foi inferior se comparadas com os dois outros fungos avaliados.

Ao avaliarem a eficiência de óleo de copaíba em diferentes concentrações, além do tratamento com fungicida Captana, Mondego *et al.* (2014) verificaram que o óleo de copaíba na concentração de 1% foi eficiente no controle de *Aspergillus* sp. e nas concentrações 1 e 1,5% para *Chaetomium* sp. e *Curvularia* sp., em sementes de Embiratanha (*Pseudobombax marginatum*).

Ugulino *et al.* (2018), ao verificar o potencial efeito inibitório dos óleos essenciais de hortelã (*Mentha* sp.), eucalipto (*Eucalyptus* spp.), copaíba (*Copaifera* sp.) e alecrim-da-chapada (*Lippia gracilis*) sobre o crescimento de *Macrophomina phaseolina*, constataram que os óleos essenciais de hortelã e alecrim-da-chapada obtiveram melhores resultados quanto a inibição do crescimento micelial, em relação aos óleos de eucalipto e copaíba que apesar de potencialmente promissores, apresentaram inibição moderada do crescimento micelial do fungo.

Ao verificarem o potencial fungitóxicos dos óleos essenciais de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*), e de seus constituintes majoritários, sobre o crescimento micelial dos fitopatógenos *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*, Gonçalves *et al.* (2015) notaram que ambos os óleos essenciais inibiram totalmente o crescimento micelial de *R. solani* na concentração de 400 $\mu\text{g/mL}^{-1}$, já o crescimento micelial de *S. rolfsii* foi inibido pelo óleo essencial de capim-limão na concentração de 300 $\mu\text{g/mL}^{-1}$ e pelo óleo essencial de alecrim-pimenta na concentração de 400 $\mu\text{g/mL}^{-1}$. Quanto aos

constituintes majoritários, o 1,8-cineol não apresentou efeito fungitóxico nas concentrações avaliadas. Contudo, o carvacrol e o citral foram mais efetivos que os óleos essenciais, havendo ausência de crescimento micelial de *R. solani* e de *S. rolfii* nas concentrações de 200 $\mu\text{g/mL}^{-1}$ e 225 $\mu\text{g/mL}^{-1}$, respectivamente.

2.3.1. Óleo essencial de cravo da índia (*Syzygium aromaticum* (L.) Merrill & Perry)

A árvore *Syzygium aromaticum* (L.) Merrill & Perry, comumente conhecida como cravo da índia, tem origem nas Ilhas das Molucas, arquipélago situado na Indonésia, sendo uma das especiarias mais antigas e valiosas do oriente (DUARTE, 2014). Trata-se de uma árvore da família Myrtaceae, perenifólia, de médio porte, folhas lanceoladas, verde-brilhantes, onduladas, fortemente aromáticas (POLUNIN; ROBBINS, 1993). Seu óleo essencial é isolado de botões de flores secas, que são a fonte de seu cheiro forte (AFFONSO *et al.*, 2012). No Brasil, o estado da Bahia é o maior produtor comercial desta especiaria (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

O óleo essencial de cravo da índia é amplamente utilizado e bem conhecido por suas propriedades medicinais. Estudos relatam propriedades antifúngicas (RANA *et al.*, 2011), antibacterianas, anticarcinogênicas (COSTA *et al.*, 2011), antioxidante, inseticida, anestésicas e anti-inflamatórias (AFFONSO *et al.*, 2012). O principal constituinte do óleo de cravo da índia é o eugenol ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_2$) que compõem entre 70% e 90% do óleo, enquanto 5% a 15% é acetato de eugenol e β -cariofileno e concentrações de até 2,1% de α -humuleno, além óxido de cariofileno e acetato de eugenila em menores concentrações (RAZAFIMAMONJISON *et al.*, 2013; CORTES-ROJAS *et al.*, 2014). O cravo da índia representa uma das principais fontes vegetais de compostos fenólicos como flavonóides, ácidos hidroxibenzóicos, ácidos hidroxicinâmicos e hidroxifenil propano (CORTES-ROJAS *et al.*, 2014).

Estudo realizado pela European Medicines Agency (2011) concluiu que o óleo essencial de cravo age em altas concentrações como irritante local, podendo também ocorrer reações alérgicas, porém quando aplicado na forma diluída, nenhum relatório sobre casos adversos graves foi publicado. Assim, a aplicação correta do óleo pelas vias de administração propostas pode ser considerada clinicamente segura.

Mytle *et al.* (2006) relataram que as taxas de crescimento das cepas de *Listeria monocytogenes* observadas a 5°C e 15°C foram significativamente reduzidas pelo tratamento com 1% e 2% de óleo de cravo da índia. Ogunwande *et al.* (2005) verificaram que o óleo essencial do fruto exibiu forte atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*,

enquanto que o óleo foliar inibia fortemente o crescimento de *Bacillus cereus*, com uma concentração inibitória mínima de 39 µg/ml.

O componente fenólico do eugenol possui características fungicidas, incluindo atividade contra fungos isolados de onicomicose (GAYOSO *et al.*, 2005). A principal ação antifúngica parece ser exercida na membrana celular, alterando a permeabilidade celular e provocando distúrbios em suas estruturas (COSTA *et al.*, 2011). O eugenol, aplicado isoladamente, mostrou atividade antifúngica contra *Candida albicans* e *Trichophyton mentagrophytes* (TAMPIERI *et al.*, 2005).

Sofia *et al.* (2007) testaram a atividade antimicrobiana de diferentes plantas de especiarias indianas, como hortelã, canela, mostarda, gengibre, alho e cravo. A única amostra que demonstrou um efeito bactericida completo contra todos os patógenos de origem alimentar testados (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*) foi o extrato aquoso de cravo da Índia a 3%.

A atividade fungicida do óleo essencial de cravo da Índia também foi relatada em várias espécies de fungos de origem alimentar, e foi observado em um estudo que o óleo essencial de cravo da Índia inibiu até mesmo o crescimento de *Aspergillus niger* (PAWAR; THAKER, 2006; CHAIEB *et al.*, 2007). A microscopia eletrônica de varredura (MEV) mostrou dano morfológico significativo, com deformidade celular nas células de *Saccharomyces cerevisiae* causada pelo óleo (CHAMI *et al.*, 2005).

No controle de fungos fitopatogênicos, o óleo essencial de cravo da Índia tem mostrado resultados promissores. Núñez *et al.* (2001) demonstraram que a mistura de oleoresina de cravo da Índia com solução concentrada de açúcar produziu um forte efeito fungicida ao reduzir o tamanho do inóculo dos fungos. Costa *et al.* (2011) investigaram a ação do óleo essencial de *S. aromaticum* (L.) sobre o crescimento micelial *in vitro* dos fungos fitopatogênicos *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* e *Macrophomina phaseolina*. Estes autores, constataram que o óleo essencial de cravo apresentou atividade fungicida na concentração de 0,15% sobre o crescimento de *R. solani*, *F. oxysporum* e *F. solani*, entretanto não demonstrou essa atividade sobre *M. phaseolina*.

Ao avaliarem o efeito antifúngico do óleo essencial de cravo da Índia frente aos fungos *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopercisi*, *F. oxysporum* f. sp. *Tracheiphilum*, Ascensão e Mouchrek Filho (2013) obtiveram ótimos resultados, já que a inibição de crescimento fúngico chegou a ser total em dois dos fungos estudados e entre 85% e 90% nos outros dois.

Santos *et al.* (2007), ao verificarem o potencial fungitóxico do óleo essencial de cravo da Índia sobre os fungos *Fusarium oxysporum* e *Rhizoctonia solani* em diferentes concentrações de óleo, constataram que o óleo reduziu o crescimento micelial de *F. oxysporum* e *R. solani*, ocorrendo inibição do crescimento micelial em todas as concentrações, sendo que a partir de 500mg/kg ocorreu a inibição total dos fungos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. EXPERIMENTO *IN VITRO*

O experimento foi conduzido no laboratório de Fitopatologia do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar (CCTA) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), no período de abril a maio de 2018.

Para realização do ensaio, foram utilizadas as estirpes 3434 de *Fusarium verticillioides*, 2726 de *Macrophomina phaseolina* e 2709 de *Macrophomina pseudophaseolina*, cedidas pela coleção de cultura de fungos fitopatogênicos Prof. Maria Menezes da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Todos os fungos foram preservados em água destilada estéril pelo método Castellani até a realização do ensaio (CASTELLANI, 1967).

O óleo essencial de cravo da índia (*Syzygium aromaticum*) foi obtido comercialmente em loja de produtos naturais. Os principais constituintes do óleo utilizado são o eugenol (70 - 90%), acetato de eugenol e β -cariofileno (5 - 15%), α -humuleno em concentrações de até 2,1%, e em menores concentrações o óxido de cariofileno e acetato de eugenila (RAZAFIMAMONJISON *et al.*, 2013; CORTES-ROJAS *et al.*, 2014).

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com sete tratamentos (5 concentrações do óleo, 1 testemunha negativa e 1 testemunha positiva) em cinco repetições cada. Os tratamentos consistiram do meio de cultura BDA autoclavado (Batata Dextrose Agar: Composição: 200g/L de Infusão de batata; 20 g/L de Dextrose; e 15g/L de Ágar) suplementado com o óleo essencial de cravo da índia nas concentrações 0,0125, 0,025, 0,05, 0,1 e 0,2%, a testemunha negativa (0%), e a testemunha positiva, suplementada com o fungicida comercial Tiram (Carboxina – 200 g/L (20,0% m/v), Tiram - 200 g/L (20,0% m/v), Etileno Glicol - 249 g/L (24,9% m/v), utilizado na dose indicada pelo fabricante (250 μ L L⁻¹). As concentrações do óleo foram estabelecidas a partir de uma concentração inicial baseada na literatura (SANTOS *et al.*, 2007) e então reduzidas gradativamente até que a adição de óleo ao meio não fosse mais capaz de impedir o crescimento fúngico.

Os diferentes tratamentos foram incorporados ao meio de cultura fundente à temperatura de 46-48°C. Após o resfriamento, o meio foi vertido em placas de Petri de 7,5 cm de diâmetro em condições assépticas, sendo aproximadamente 15 mL de meio de cultura por

placa. Discos de meio de cultura com 1 cm de diâmetro contendo micélios dos fungos foram transferidos para o centro de cada placa contendo os tratamentos. Em seguida, as placas foram envolvidas em plástico filme e incubadas em estufa do tipo B.O.D (*Biochemical Oxygen Demand*) a temperatura de $27\pm 2^{\circ}\text{C}$.

O crescimento das colônias foi mensurado diariamente até que a colônia tomasse toda a superfície do meio de cultura de pelo menos uma das placas ou no período máximo de 7 dias. As avaliações tiveram início 24 horas após o preparo das placas. O crescimento foi estimado através da média de duas medidas perpendiculares do diâmetro da colônia, com o auxílio de régua graduada, obtendo-se o valor diário para cada repetição de cada tratamento. Com o resultado das medidas, foram calculados a porcentagem de inibição micelial (PIC; BASTOS, 1997) e o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM; OLIVEIRA, 1991), de acordo com as fórmulas (1) e (2):

$$PIC = \frac{(\text{Crescimento da testemunha} - \text{Crescimento do tratamento}) \times 100}{\text{Crescimento da testemunha}} \quad (1)$$

$$IVCM = \sum \frac{\text{Diâmetro médio atual} - \text{Diâmetro médio anterior}}{\text{Número de dias após a inoculação}} \quad (2)$$

3.2. EXPERIMENTO *IN VIVO*

O experimento foi conduzido no laboratório de Fitopatologia do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar (CCTA) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), no período de outubro a novembro de 2018. Utilizamos 1.300 sementes de milho híbrido AG 1051 que foram adquiridas em casa comercial na cidade de Pombal-PB, apresentando pureza mínima de 98% e germinação mínima de 85%, o híbrido pertence a empresa Agrocere, apresentando as seguintes características descritas na Tabela 1.

O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado (DIC). Os tratamentos constaram formulação de soluções de água destilada estéril com suplementação do óleo essencial de cravo da índia na concentração inibitória mínima (determinada no teste *in vitro*) e em concentrações imediatamente superiores, além das testemunhas negativa (%) e positiva (Tiram a 250ml L⁻¹). Assim, foram aplicados 5 tratamentos para o fungo *F. verticillioides* (3 concentrações do óleo, 1 testemunha negativa e 1 positiva); e 4 tratamentos para os fungos *M. phaseolina* e *M. pseudophaseolina* (2 concentrações do óleo, 1 testemunha negativa e 1 positiva) com dez repetições para cada tratamento por fungo. Com a finalidade

de permitir a emulsão, todos os tratamentos foram suplementados com adição do Tween 80 a 0,1%, o qual reduz a tensão superficial no contato do óleo (apolar) com a água destilada estéril (polar) (PACKER; LUZ, 2007).

Tabela 1. Informações disponibilizadas pela empresa Agrocerec referentes ao híbrido AG 1051.

Características Agronômicas	Vantagens do Produto
Ciclo: semiprecoce Porte da planta: alto Inserção da espiga: alta Stay green: bom Empalhamento: excelente Qualidade de colmo: boa Sistema radicular: excelente Tipo de grão: dentado amarelo Finalidade de uso: milho-verde e silagem de planta inteira	Flexibilidade de plantio em todas as regiões do Brasil. Alto potencial de produção de matéria seca e de proteína para a silagem. Flexibilidade quanto ao seu uso: silagem, pamonha ou milho verde.
Recomendação Técnica	Benefícios ao Agricultor
Época de plantio: verão População de plantas: 45.000 – 50.000 plantas/há	Excelente janela de corte permitindo maior tempo para operação de ensilagem. Perfeito para os mercados de milho-verde e pamonha, com excelente rendimento. Maior tempo de durabilidade de milho verde para bandeja.

Após desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio 2,5% por cinco minutos, as sementes foram lavadas com água destilada estéril e secas à temperatura ambiente. Posteriormente, as sementes foram imersas por cinco minutos nas soluções de tratamento descritas acima, sendo 100 sementes por tratamento.

Após tratadas, as sementes foram inoculadas artificialmente por meio da deposição sobre colônias dos fungos que haviam sido cultivados em meio de cultura BDA em placas de Petri de 9,0 cm, incubadas em estufa do tipo B.O.D (*Biochemical Oxygen Demand*) à temperatura de $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ com fotoperíodo de 12 horas durante sete dias. As sementes permaneceram em contato com as estruturas dos fungos durante um período de incubação de 32 horas com propósito de favorecer aos fungos a colonização do interior das sementes. O tempo de contato entre as sementes e as colônias fúngicas teve por base o estudo de Ramos *et al.* (2014).

Após o tratamento e inoculação, as amostras foram submetidas ao teste de sanidade, o qual foi realizado pelo método de papel filtro com congelamento (LIMONARD 1966). As 100 sementes de cada tratamento foram distribuídas em dez placas de Petri de 14 cm de diâmetro (dez sementes por placa) de forma equidistantes, sobre três folhas de papel filtro previamente umedecido com 15 mL de água destilada estéril, e incubadas em estufa do tipo B.O.D durante 24 horas à temperatura de $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ com fotoperíodo de 12 horas. Após esse período, as placas foram transferidas para ambiente a -20°C durante 24 horas e, posteriormente, incubadas em estufa do tipo B.O.D por mais 7 dias à temperatura de $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ com fotoperíodo de 12 horas.

As avaliações foram realizadas individualmente, examinando-se as sementes sob microscópio estereoscópico, e os fungos identificados por meio das características morfológicas de suas estruturas. Os resultados foram expressos em percentagem de sementes contaminadas para cada fungo.

3.3. Análise estatística *in vitro* e *in vivo*

Com o objetivo de verificar a influência da concentração do óleo sobre o crescimento dos fungos no experimento *in vitro*, foram realizadas regressões utilizando-se o modelo platô-quadrático. As regressões foram realizadas no programa R Core Team 3.5.1. A diferença entre tratamentos com óleo e com o fungicida comercial nos testes *in vitro* e *in vivo* foram verificadas aplicando-se a comparação múltipla de Mann-Whitney (Tukey não-paramétrico). Foram consideradas significantes as diferenças em valor de probabilidade abaixo de 5%. As análises foram realizadas no programa Past 3.12 (HAMMER *et al.*, 2001). Testes não-paramétricos foram utilizados devido à ausência de variância nos resultados de alguns tratamentos.

4. RESULTADOS

4.1. Inibição do crescimento micelial de fungos fitopatogênicos *in vitro*

No teste *in vitro*, todas as concentrações testadas do óleo de cravo da Índia exerceram inibição sobre o crescimento micelial dos fitopatógenos avaliados. As porcentagens de inibição aumentaram significativamente com as concentrações avaliadas até atingirem e manterem o valor máximo (PIC = 100%) nas concentrações superiores (Figura 1).

A inibição total do crescimento micelial de *Fusarium verticillioides* foi obtida a partir da concentração de 0,05%, já o crescimento dos fungos *Macrophomina phaseolina* e *M. pseudophaseolina* foi totalmente inibido a partir da concentração 0,1%, sendo estas as concentrações inibitórias mínimas observadas (CIMObs), ou seja, as menores concentrações avaliadas capazes de inibir totalmente o crescimento dos fitopatógenos testados (Tabela 2). Por outro lado, utilizando-se as equações geradas pela regressão em platô-quadrático, as concentrações mínimas foram levemente diferentes das observadas, por isso chamadas de concentrações estimadas (CIMest), sendo 0,039, 0,082 e 0,0931% para *F. verticillioides*, *M. phaseolina* e *M. pseudophaseolina*, respectivamente (Tabela 2).

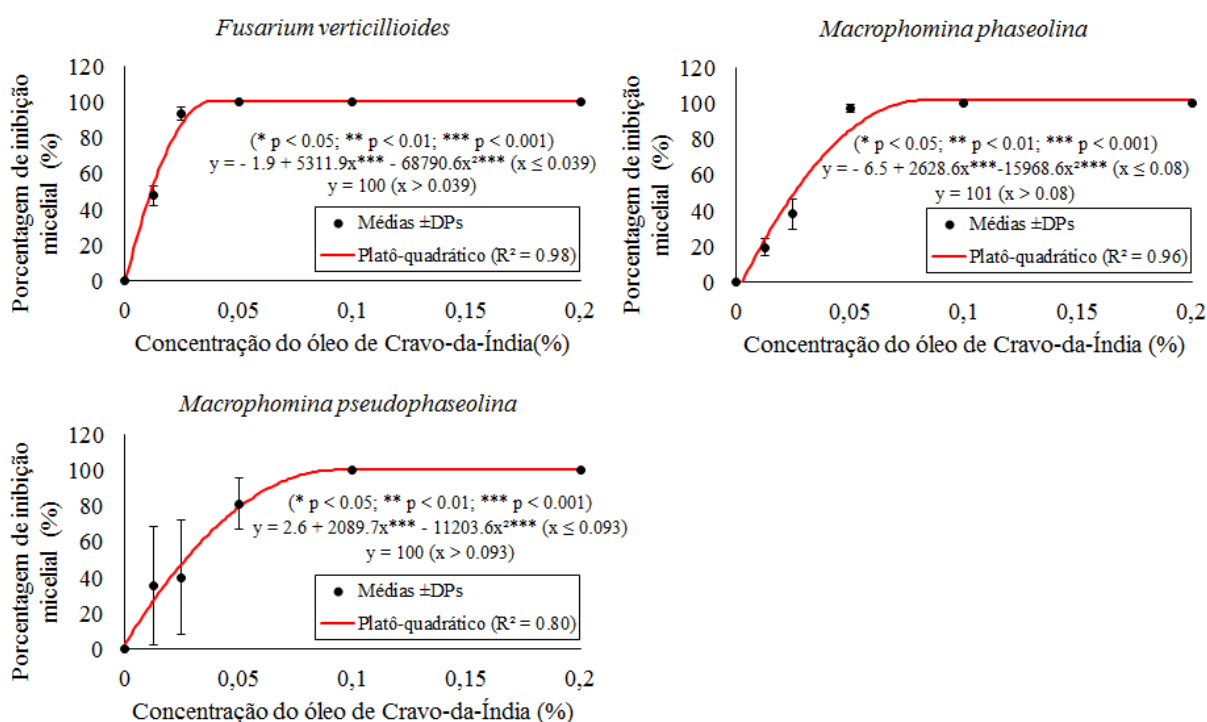


Figura 1. Efeito das diferentes concentrações do óleo essencial de cravo da Índia sobre o crescimento micelial de fungos fitopatogênicos.

Tabela 2. Concentrações inibitórias mínimas do óleo essencial de cravo da Índia frente a diferentes fungos fitopatogênicos.

Fitopatógeno	CIMobs ¹	CIMest ²
<i>Fusarium verticillioides</i>	0,05	0,039
<i>Macrophomina phaseolina</i>	0,1	0,082
<i>Macrophomina pseudophaseolina</i>	0,1	0,093

¹Concentração inibitória mínima observada no teste *in vitro*;

²Concentração inibitória mínima estimada pela análise de regressão em modelo platô-quadrático.

O efeito antifúngico do óleo essencial de cravo da Índia foi similar ou superior ao obtido pelo fungicida comercial Tiram (Figura 2). No teste com o fungo *F. verticillioides*, o óleo na CIM (0,05%) foi mais eficaz que o fungicida, pois este obteve PIC de 97,7%, enquanto que o óleo atingiu 100% de inibição. No controle dos fungos *M. phaseolina* e *M. pseudophaseolina*, o óleo nas CIMobs (0,1%) obteve a mesma eficácia do fungicida (100% de inibição).

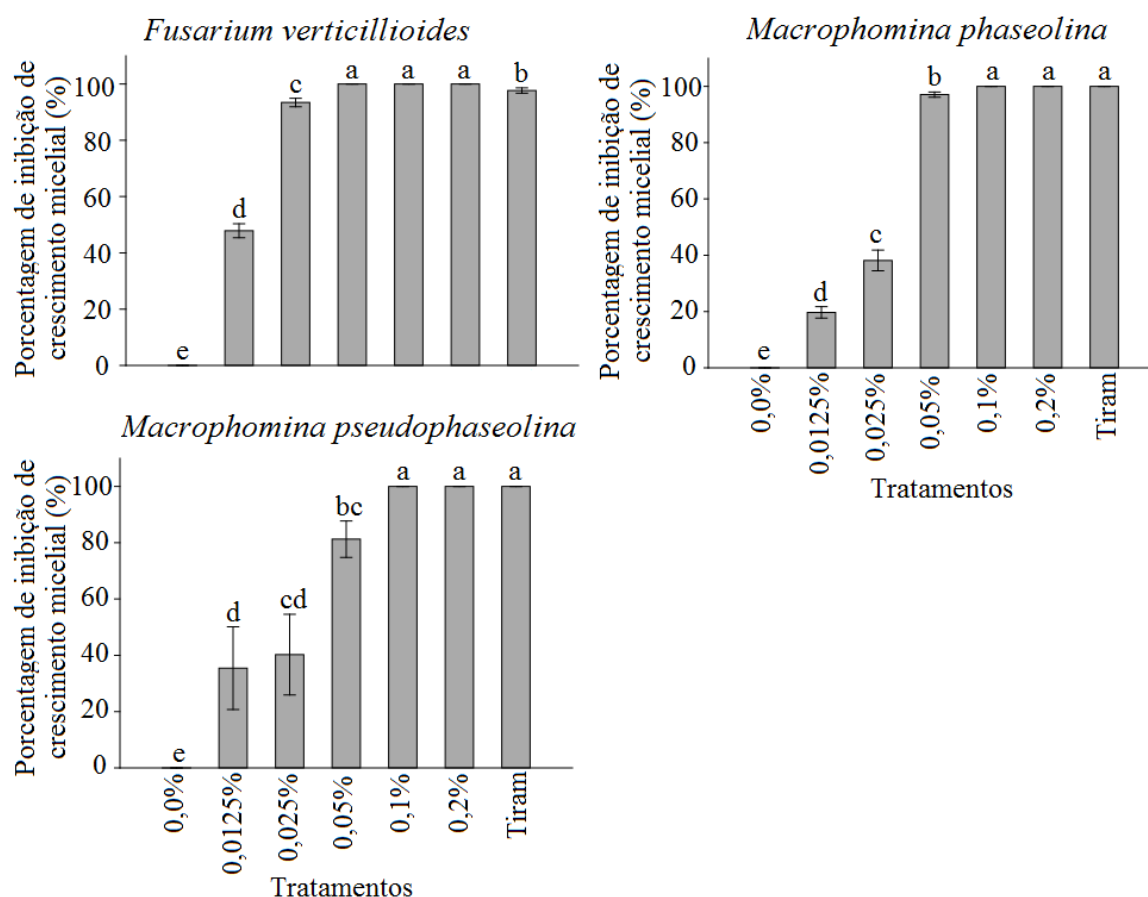


Figura 2. Porcentagem de inibição de crescimento de fitopatógenos em diferentes concentrações do óleo essencial de cravo da Índia. As concentrações sobrescritas com a mesma letra não diferem significativamente entre si de acordo com o teste de Mann-Whitney ($p > 0,05$).

A velocidade de crescimento micelial diferiu significativamente entre os tratamentos (Tabela 3). Para o fungo *F. verticillioides*, os tratamentos contendo as concentrações 0,05%, 0,1% e 0,2% reduziram totalmente a velocidade de crescimento, com média de 0,00 cm dia⁻¹, não diferindo estatisticamente entre si, porém diferindo da testemunha negativa que apresentou as maiores velocidades de crescimento (0,85 cm dia⁻¹) respectivamente, além de diferir significativamente do tratamento contendo o fungicida Tiram, que obteve velocidade de crescimento de 0,02 cm dia⁻¹.

A redução máxima na velocidade de crescimento (0,00 cm dia⁻¹) dos fungos *M. phaseolina* e *M. pseudophaseolina* ocorreu nos tratamentos contendo as concentrações 0,1% e 0,2%, não diferindo estatisticamente entre si, porém diferindo do tratamento sem suplementação do óleo que apresentou as maiores velocidades de crescimento (2,17 e 1,23 cm dia⁻¹, respectivamente). O controle dos fungos *M. phaseolina* e *M. pseudophaseolina* com o óleo de cravo da Índia não diferiu estatisticamente do tratamento contendo o fungicida Tiram.

Tabela 3. Média dos índices de velocidade de crescimento micelial (cm dia⁻¹ ± DP) de fungos fitopatogênicos na concentração inibitória mínima do óleo essencial de cravo da Índia e no tratamento testemunha.

Fitopatógeno	Controle negativo	Óleo (CIM)	Tiram
<i>F. verticillioides</i>	0,85 ± 0,02 a ¹	0,00 ± 0,00 b	0,02 ± 0,01654 c
<i>M. phaseolina</i>	2,17 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 b	0,00 ± 0,00 b
<i>M. pseudophaseolina</i>	1,23 ± 0,49 a	0,00 ± 0,00 b	0,00 ± 0,00 b

¹Letras iguais na horizontal não diferem significativamente de acordo com teste de Mann-Whitney ($p > 0,05$).

4.2. Incidência de fitopatógenos em sementes de milho

Para o fungo *F. verticillioides*, as concentrações do óleo essencial de cravo da Índia não exerceram inibição significativa sobre a incidência de colônias dos fitopatógenos em

sementes do milho híbrido AG 1051 (Figura 3). Quanto aos fungos *M. phaseolina* e *M. pseudophaseolina*, todas as concentrações do óleo essencial de cravo da Índia exerceram inibição sobre a incidência de fitopatógenos, reduzindo a ocorrência dos fungos avaliados nas sementes significativamente com o aumento da concentração do óleo essencial (Figura 3).

O efeito antifúngico do óleo essencial de cravo da Índia na concentração de 0,2% sobre o fungo *F. verticillioides* foi superior ao obtido pelo fungicida comercial Tiram nas sementes de milho, obtendo incidência média de 55% em contraste com a incidência de 92% no teste com o fungicida. As incidências dos fungos *M. phaseolina* e *M. pseudophaseolina* foram de 88% e 83%, respectivamente, nos testes com o óleo na concentração 0,2%, porém estas não diferiram significativamente das incidências observadas nos testes com fungicida comercial 96% e 84%, respectivamente (Figura 3).

5. DISCUSSÃO

Os resultados observados nesse estudo confirmam a capacidade antifúngica do óleo essencial de cravo da Índia. No teste *in vitro*, o óleo inibiu totalmente o crescimento dos fungos avaliados mesmo em baixas concentrações, enquanto no teste *in vivo*, ele reduziu a incidência de fitopatógenos em sementes de milho. O eugenol é o composto majoritário presente na composição química do óleo essencial, que também apresenta β -cariofileno, α -humuleno, óxido de cariofileno e acetato de eugenila em menores concentrações (SILVESTRI *et al.*, 2010; AFFONSO *et al.*, 2012; RAZAFIMAMONJISON *et al.*, 2013; CORTES-ROJAS *et al.*, 2014). Estes compostos são relacionados frequentemente às atividades antimicrobianas do óleo de cravo. A fungitoxidade do eugenol e dos demais compostos tem sido relatada em diversos estudos (SANTOS *et al.*, 2007; AFFONSO *et al.*, 2012; RAMOS *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2016).

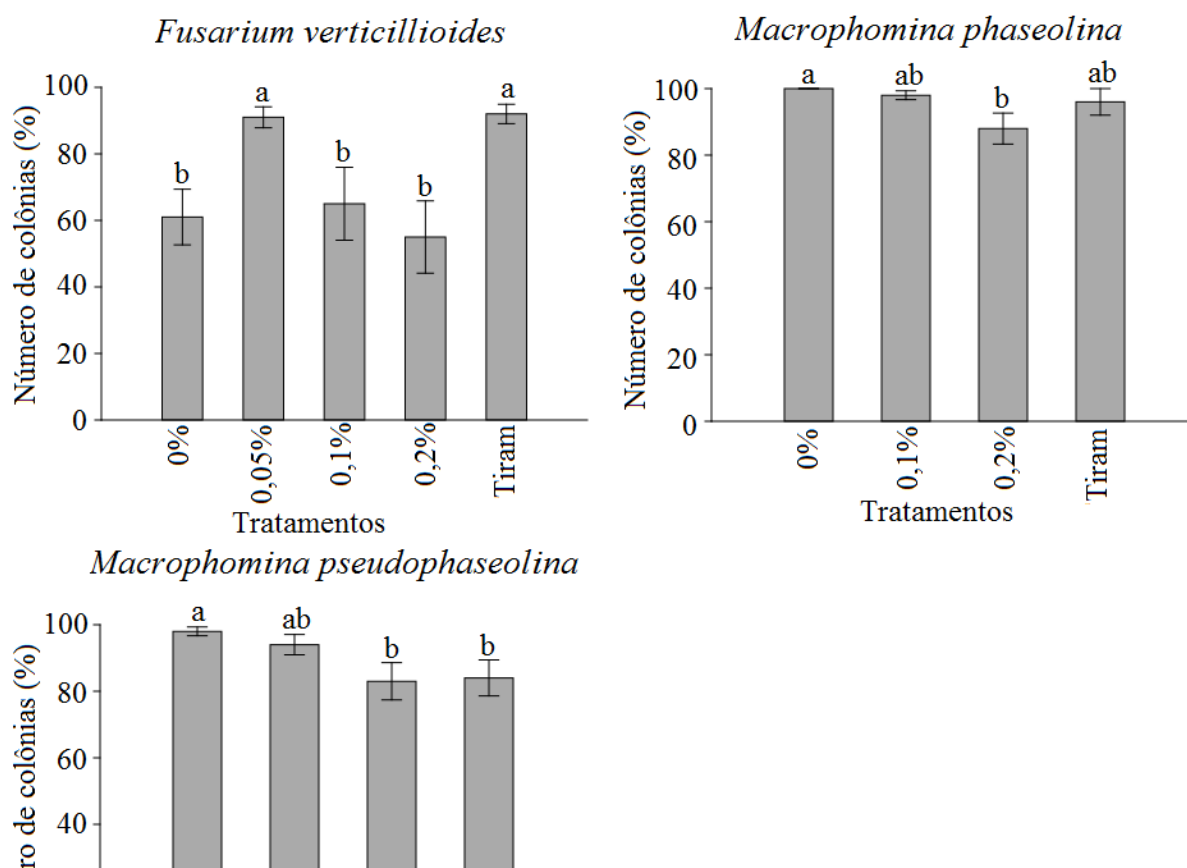


Figura 3. Porcentagem da incidência de colônias de fitopatógenos em diferentes concentrações do óleo essencial de cravo da índia em sementes de milho híbrido AG 1051. As concentrações sobrescritas com a mesma letra não diferem significativamente entre si de acordo com o teste de Mann-Whitney ($p > 0,05$).

A atividade antifúngica do óleo essencial de cravo da índia está associada com sua hidrofobicidade, a qual proporciona a interação com a parede e os lipídeos da membrana celular e da mitocôndria, alterando a permeabilidade celular e provocando distúrbios em suas estruturas (COSTA *et al.*, 2011). O estudo realizado por Ahmad *et al.* (2010) sugere que o Eugenol pode exercer sua ação antifúngica através da inibição de bombas de efluxo (H^+ ATPase) na membrana celular fúngica, levando a acidificação intracelular e inativação celular. Entretanto, a pesquisa realizada por Darvishi *et al.* (2013) descreve que a ação antifúngica do Eugenol não está diretamente relacionada com o rompimento da membrana, porém com os transportadores de aminoácidos aromáticos e com a permeabilidade na membrana citoplasmática das células de levedura, o que pode causar alterações conformacionais, sendo estes fatores os causadores do rompimento celular.

Utilizando o óleo essencial de cravo da índia em concentrações próximas ou superiores às nossas, outros autores obtiveram resultados inferiores ou semelhantes quanto à inibição micelial. Por exemplo, em condição *in vitro*, Costa *et al.* (2011) avaliou o efeito deste óleo essencial sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Rhizoctonia solani* e *Macrophomina phaseolina*, verificando que na concentração 0,15% ocorreu a total inibição do desenvolvimento das três primeiras espécies, porém permitindo o crescimento de *M. phaseolina*. Santos *et al.* (2007) alcançaram inibição total do crescimento dos fungos *R. solani* e *F. oxysporum* na concentração de 0,05%. Abdel-Kader *et al.* (2011) obteve inibição total do crescimento de *R. solani*, *Sclerotium rolfsii* e *M. phaseolina* a partir da concentração de 2%. Desta forma, nossos resultados *in vitro* corroboram os resultados da literatura, porém

demonstrando que fungos com efeitos severos sobre a cultura do milho, como o *F. verticillioides*, também são susceptíveis ao controle utilizando-se o óleo de cravo da Índia quando em condições *in vitro*.

A literatura apresenta resultados bastante variados sobre os efeitos fungitóxicos de óleos produzidos a partir de outras plantas, porém, devido à predominância de estudos utilizando concentrações superiores às nossas, comparações com os efeitos do óleo de cravo tornam-se inconsistentes. Por exemplo, Ugolino *et al.* (2018) alcançaram inibição total do crescimento de *M. phaseolina* em todas as concentrações testadas (0,4 a 1,0%) do óleo essencial de alecrim da chapada (*Lippia gracilis*) em condições *in vitro*. Abdel-Kader *et al.* (2011) identificaram efeito do óleo de hortelã (*Mentha piperita*) na redução do crescimento micelial do fungo *M. phaseolina* nas concentrações de 1,0 a 4,0%.

Em outros casos, porém, a comparação do efeito do óleo de cravo com o de outros óleos é plausível. No caso da *M. phaseolina*, Khaledi *et al.* (2015), estudando a atividade antifúngica de vários óleos essenciais contra este fungo, observaram que o óleo de hortelã (*Mentha piperita*) apresentou efeito inibidor de 100% na concentração de 2000 ppm (0,2%). Ao avaliar o potencial antifúngico do óleo essencial de Ayapana (*Eupatorium triplinerve*) em concentrações de 100 a 12000 ppm (0,01 a 1,2%) em vários patógenos, Sugumar *et al.* (2015) observaram que a concentração inibitória mínima para o fungo *M. phaseolina* foi de 6000ppm (0,6%). Estes resultados sugerem que o óleo de cravo da Índia, em teste *in vitro*, é eficiente em concentrações ainda menores que as CIM obtidas pelos óleos descritos acima.

Com relação ao controle de *F. verticillioides*, o óleo de cravo da Índia apresenta efeito superior a alguns óleos e inferior a outros. Por exemplo, utilizando o óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale*), Yamamoto-Ribeiro *et al.* (2013) controlaram o crescimento de *F. verticillioides* na concentração inibitória mínima de 2500 µg/mL (0,25%), relatando também efeito inibitório significativo na produção de fumonisina B1 e B2 nas concentrações de 4000 e 2000 µg/mL (0,4 e 0,2%, respectivamente). Xing *et al.* (2014), estudando o efeito antifúngico do óleo essencial de canela (*Cinnamomum* spp.) sobre a inibição do crescimento de *F. verticillioides*, observaram que a concentração inibitória mínima foi 60 µL/L (0,000006%). A pesquisa realizada por Bomfim *et al.* (2015) relata redução significativa no crescimento micelial de *F. verticillioides* na concentração 150 µg/mL (0,015%) do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), inibindo a produção de fumonisinas e ergosterol. Testando o efeito do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) sobre a germinação de esporos e crescimento micelial de *C. cassicola*, *Fusarium* sp., *C.*

gloeosporioides e *R. solani*, Romero *et al.* (2012) observaram que todos os fungos tiveram inibição completa pela ação do óleo a partir de 500 ppm (0,05%).

Quanto à inibição dos fungos em sementes, nossos resultados foram semelhantes ou superiores aos obtidos por outros autores que avaliaram o efeito fungitóxico dos óleos essenciais de outras espécies vegetais sobre as mesmas espécies de fungos. Por exemplo, no controle em sementes inoculadas em meio de cultura BDA, Amaral e Bara (2005) tiveram resultados semelhantes aos nossos referentes à influência da atividade antifúngica do óleo de cravo em concentrações de 0,5 a 0,1% sobre fitopatógenos presentes em sementes de arroz, feijão, soja e milho. Brito *et al.* (2012), estudando os efeitos óleos essenciais de citronela (*Cymbopogon nardus*), eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) e do composto citronelal sobre micoflora associada a sementes de milho XGN5320, observaram que os fungos *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. e *Colletotrichum* sp., foram inibidos significativamente na concentração de 0,15%. Ao avaliarem o potencial inibitório dos óleos essenciais de eucalipto limão (*Corymbia citriodora*) e eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis*) em sementes de milho da variedade AL Bandeirante, Domene *et al.* (2016) relataram que o óleo foi capaz de diminuir a incidência dos fungos dos gêneros *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp.

O efeito eficiente dos óleos essenciais também foi verificado em sementes de diferentes espécies. Pesquisa realizada por Santos (2014), estudando os óleos essenciais de capim limão (*Cymbopogon citratus*), cravo (*Eugenia caryophyllus*) e manjeriço (*Ocimum basilicum*), observaram que concentrações a partir de 0,5%, reduziram a incidência de *Phomopsis sojae* nas sementes tratadas e não interferiram na qualidade fisiológica das sementes de soja. Ao estudarem a eficiência de óleos na qualidade sanitária de sementes de sorgo da cultivar BR 310, Flávio *et al.* (2014) relataram que o óleo de alfavaca cravo (*Ocimum gratissimum* L.) reduziu a infestação dos fungos avaliados, principalmente do gênero *Curvularia*. Avaliando o efeito de óleos essenciais na sanidade de sementes de soja, Gonçalves *et al.* (2009), concluíram que o óleo de gengibre (*Zingiber officinale*) na concentração de 20% controlou a incidência de *Cladosporium* sp., *Rhizopus* sp. e *Fusarium* sp. nos grãos. Araujo Neto *et al.* (2012) avaliaram o efeito do óleo de anis (*Pimpinella anisum*) sobre a micoflora fitopatogênica e fisiologia de sementes de erva doce (*Foeniculum vulgare*), os resultados mostraram que o óleo nas maiores concentrações (2,0 e 2,5 %) reduziu a incidência de *Alternaria* sp. e *Cladosporium* sp., e aumentou a germinação das sementes de erva-doce.

6. CONCLUSÕES

Em condições *in vitro*, o óleo essencial de cravo da índia inibiu o crescimento micelial de *Fusarium verticillioides*, *Macrophomina phaseolina* e *Macrophomina pseudophaseolina*.

A inibição total do crescimento micelial (PIC = 100%) ocorreu na concentração de 0,05% para o fungo *F. verticillioides* e de 0,1% para *M. phaseolina* e *M. pseudophaseolina*, em condições *in vitro*.

O óleo essencial de cravo da índia na concentração de 0,2% reduziu significativamente a incidência das colônias dos fungos *M. phaseolina* e *M. pseudophaseolina* em sementes de milho híbrido AG 1051.

7. REFERÊNCIAS

ABAWI, G. S.; PASTOR-CORRALES, M. A. Root rots of bean in Latin America and Africa: Diganosis, Research Methodologies, and Management Strategies. Cali, Colombia: **Centro Internacional de Agricultura Tropical** (CIAT), p. 114, 1990.

ABDEL-KADER, M M.; EL-MOUGY, N. S.; LASHIN, S. M. Essential oils and *trichoderma harzianum* as an integrated control measure against faba bean root rot pathogens. **Journal of Plant Protection Research** vol. 51, nº 3, 2011.

ABIMILHO. **Estatística, oferta e demanda.** Disponível em: <http://www.abimilho.com.br/estatisticas>. Acesso em: 21 dez. 2018.

ADEKUNLE, A. T.; CARDWELL, K. F.; FLORINI, D. A.; IKOTUN, T. Seed Treatment with *Trichoderma* Species for Control of Damping-off of Cowpea Caused by *Macrophomina phaseolina*. **Biocontrol Science and Technology**. v. 11, p. 449-457, 2010.

ADORJAN, B.; BUCHBAUER, G. Biological properties of essential oils: An updated review. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 25, n. 6, p. 407–426, 2010.

AFFONSO, R. S.; RENNÓ, M. N.; SLANA, G. B. C. A.; FRANCA, T. C. C. Aspectos Químicos e Biológicos do Óleo Essencial de Cravo da Índia. **Revista Virtual Química**, v. 4, n. 2, p. 146-161, 2012.

AHMAD, A.; KHAN, A.; KHAN, L. A.; MANZOOR, N. *In vitro* synergy of eugenol and methyleugenol with fluconazole against clinical *Candida* isolates. **Journal of Medical Microbiology**, v. 59, n. 10, p. 1178–1184, 2010.

AKILA, R.; RAJENDRAN, L.; HARISH, S.; SAVEETHA, K.; RAGUCHANDER, T.; SAMIYAPPAN, R. Combined application of botanical formulations and biocontrol agents for

the management of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) causing *Fusarium* wilt in banana. **Biological Control**, v. 57, p.175–183, 2011.

ALAM, B. S.; MEA, D.; DJABOU, N.; TABTI, B.; GAOUAR BENYELLES, N.; COSTA, J.; MUSELLI, A. Essential Oils as Biocides for the Control of Fungal Infections and Devastating Pest (*Tuta absoluta*) of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Chemistry & Biodiversity**. v. 14, p. 1-10, 2017.

ALY A.A., ABDEL-SATTAR M.A., OMAR M.R., ABD-ELSALAM K.A. Differential antagonism of *Trichoderma* sp. against *Macrophomina phaseolina*. **Journal of Plant Protection Research**, v. 47, p. 91–102, 2007.

AMMAD, F.; MOUMEN, O.; GASEM, A.; OTHMANE, S.; KATO-NOGUCHI, H.; ZEBIB, B.; MERAH, O. The potency of lemon (*Citrus limon* L.) essential oil to control some fungal diseases of grapevine wood Les huiles essentielles de citron (*Citrus limon* L.) pour lutter contre certaines maladies fongiques du bois de la vigne. **Comptes Rendus Biologies**. v. 341, p. 97-101, 2018.

AMMAR, M.I. *Fusarium* species associated with corm rots and wilt of banana (*Musa* sp.) under Egyptian conditions. **Egyptian Journal of Phytopathology**, v. 35, p. 81–98, 2007.

AMORIM, E.P.; AMORIM, V.B.O.; SILVA, S.O.; PILLAY, M. Quality improvement of cultivated *Musa*. In: PILLAY, M.; TENKOUANO, A. (Org.). **Banana breeding: progress and challenges**. New York: CRC Press, p. 252-280, 2011.

AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. Manual de Fitopatologia. Volume 1 - Princípios e Conceitos. 4ª Edição. **Editora Agronômica Ceres Ltda**. São Paulo, p. 704, 2011.

ANVISA - Agência nacional de vigilância sanitária. Programa de Análise de Resíduo de Agrotóxico em Alimentos (PARA), dados da coleta e análise de alimentos de 2010. Brasília: Anvisa, 2011. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov/>>. Acesso em: 17 de agosto, 2018.

ANVISA – Agência nacional de vigilância sanitária; UFPR. Seminário mercado de agrotóxico e regulação, 2012. Brasília: Anvisa. Acesso em: 23 de agosto, 2018.

ARAUJO NETO, A.C.; ARAÚJO, P.C.; DE SOUZA, W.C.O.; MEDEIROS, J.G.F.; AGUIAR, A.V. M. Óleo essencial de anis na incidência e controle de patógenos em sementes

de erva-doce (*Foeniculum vulgare* mill.). **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 1, p. 170- 176, 2012.

ASCENÇÃO, V. L.; MOUCHREK FILHO, V. E. Extração, caracterização química e atividade antifúngica de óleo essencial *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia). **Cadernos de Pesquisa**, São Luís, v. 20, n. especial, 2013.

BACON, C.W., HINTON, D.M. & RICHARDSON, M.D. A corn seedling assay for resistance to *Fusarium moniliforme*. **Plant Disease**, v. 78, p. 302-305. 1994.

BASTOS, C.N. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipelis* e outros fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, v.22, n.3, p.441-3, 1997.

BELLOTTE, J. A. M. **Controle da mancha preta dos frutos cítricos mediante manejo cultura**. Dissertação (Mestrado – Produção Vegetal) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, p. 63, 2006.

BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, v. 7, n. 4, p. 249-260, 2004.

BETTIOL, W. **Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas**. Wagner Bettiol... [et. al.]. – Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2012. 155 p. — (Documentos/Embrapa Meio Ambiente; 88). Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/66628/1/Doc-88-1.pdf>> Acesso em: 5 de mai. 2018.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

BOMFIM, N. S.; NAKASSUGI, L. P.; OLIVEIRA, J. F. P.; KOHIYAMA, C. Y.; MOSSINI, S. A. G.; GRESPAN, R.; NERILO, S. B.; MALLMANN, C. A.; FILHO, B. A. A.; JUNIOR, M. M. Antifungal activity and inhibition of fumonisin production by *Rosmarinus officinalis* L. essential oil in *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg. **Food Chemistry**, v. 166, p. 330–336, 2015.

BOOTH, C. **The genus Fusarium**. Kew: Survey, C.M.I. 238p., 1971.

BRITO, D. I. V.; MORAIS-BRAGA, M. F. B.; CUNHA, F. A. B.; ALBUQUERQUE, R. S.; CARNEIRO, J. N. P.; LIMA, M. S. F.; LEITE, N. F.; SOUZA, C. E. S.; ANDRADE, J. C.; ALENCAR, L. B. B.; LAVOR, A. K. L. S.; FIGUEREDO, F. G.; LIMA, L. F.; COUTINHO,

- H. D. M. Análise fitoquímica e atividade antifúngica do óleo essencial de folhas de *Lippia sidoides* Cham. e do Timol contra cepas de *Candida* spp. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.17, n.4, supl. II, p.836-844, 2015.
- BRITO, D. R.; OOTANI, M. A.; RAMOS, A C. C.; SERTÃO, W. C.; AGUIAR, R. W. S. Efeito dos óleos de citronela, eucalipto e composto citronelal sobre micoflora e desenvolvimento de plantas de milho. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**. v. 3, n. 4, p. 184-192, 2012.
- BRODERS, K. D.; LIPPS, P. E.; PAUL, P. A.; DORRANCE, A. E. Evaluation of *Fusarium graminearum* associated with corn and soybean seed and seedling disease in Ohio. **Plant Disease**. v. 91, n. 3, p. 1155-1160, 2007.
- BRUM, R. B. C. S.; CASTRO, H. G.; CARDON, C. H.; PEREIRA, A. S.; CARDOSO, D. P.; SANTOS, G. R. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre fungos fitopatogênicos. **Magistra**, Cruz das Almas – BA, v. 26, n.3, p. 361 - 371, 2014.
- CAMARGO, L. E. A.; BERGAMIN FILHO, A. Controle Genético. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos. 4. ed. Piracicaba (BR): **Editora Agronômica Ceres Ltda.**, v. 4, p. 720 – 756, 2011.
- CAPPELINI, L. T. D. PANIZZI, R. C.; VIEIRA, R. D.; GALLI, J. A. Effect of *Fusarium moniliforme* on the quality of maize seeds. **Científica**, v. 33, n. 2, p. 185-191, 2005.
- CARVALHO, D.D.C.; MELLO, S.C.M.; LOBO JÚNIOR, M.; SILVA, M. C. Controle de *Fusarium oxysporum* f.sp. phaseoli *in vitro* e em sementes, e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. **Tropical Plant Pathology**. v. 36, p. 028 - 034, 2011.
- CARVALHO, M.L.M. **Refrigeração e qualidade de sementes de milho armazenadas em pilhas com diferentes embalagens**. (Dissertação de Doutorado). Piracicaba. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. 1992.
- CASA, R.T, REIS, E. M, MOREIRA, E.N. Transmissão de fungos em sementes de cereais de inverno e milho: implicações epidemiológicas. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Sementes: Qualidade Fitossanitária**. Vicososa: UFV; DFP, p. 55-71, 2005.

CASSAL, V. B.; AZEVEDO, L. F.; FERREIRA, R. P.; SILVA, D. G.; SIMÃO, R. S. Agrotóxicos: uma revisão de suas consequências para a saúde pública. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 18, n. 1, p. 437-445, 2014.

CASTELLANI A. Maintenance and cultivation of common pathogenic fungi of man in sterile distilled water. Further Researches. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 70, p. 181-184, 1967.

CHAIEB, K.; HAJLAOUI, H.; ZMANTAR, T.; KAHLA-NAKBI, A. B.; ROUABHIA, M.; MAHDOUANI, K.; BAKHROUF, A. The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): A short review. **Phytotherapy Research**. v. 21, p. 501–506, 2007.

CHAMI, F.; CHAMI, N.; BENNIS, S.; BOUCHIKHI, T.; REMMAL, A. Oregano and clove essential oils induce surface alteration of *Saccharomyces cerevisiae*. **Phytotherapy Research**. v. 19, p. 405–408, 2005.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento – **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**, v. 6, n. 6 safra 2018/2019, sexto levantamento, março 2019. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>; Acesso: 22 de março, 2019.

COOK, R.J.; BAKER, K.F. **The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens**. St. Paul: APS Press, p. 539, 1983.

CORTES-ROJAS, D. F.; SOUZA, C. R. F.; OLIVEIRA, W. P. Clove (*Syzygium aromaticum*): A precious spice. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. v. 4, p. 90-96, 2014.

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

COSTA, M. L. N.; MACHADO, J. C.; GUIMARÃES, R, M.; POZZA, E. A.; ORIDES, D. Inoculação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em sementes de feijoeiro através de restrição hídrica. **Ciência e Agrotecnologia**. v. 27, n. 5, p. 1023-1030, 2003.

DARVISHI, E.; OMIDI, M.; BUSHEHRI, A. A. S.; GOLSHANI, A.; SMITH, M. L. The antifungal eugenol perturbs dual aromatic and branched-chain amino acid permeases in the cytoplasmic membrane of yeast. **Plos One**, v. 8, n. 10, p. 1-9, 2013.

DAWOUD, M.; BUNDSCHUH, M.; GOEDKOOP, W.; G. MCKIE, B. Interactive effects of an insecticide and a fungicide on different organism groups and ecosystem functioning in a stream detrital food web. **Aquatic Toxicology**, v. 186, p. 215-221, 2017.

DENTI, E.A., REIS, E.M. Levantamento de fungos associados as podridões do colmo e quantificação de danos em lavouras de milho do Planalto Médio Gaúcho e Campos Gerais do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 585-590, 2003.

DITILLO, J. L.; KENNEDY, G. G.; WALGENBACH, J. F. Effects of Insecticides and Fungicides Commonly Used in Tomato Production on *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 109, p. 2298–2308, 2016.

DOLEY, K.; JITE, P. K. *In vitro* Efficacy of *Trichoderma viride* Against *Sclerotium rolfsii* and *Macrophomina phaseolina*. **Notulae Scientia Biologicae**, v. 4, n. 4, p. 39-44, 2012.

DOMENE, M. P.; GLÓRIA, E. M., BIAGI, J. D.; BENEDETTI, B. C.; MARTINS, L. Efeito do tratamento com óleos essenciais sobre a qualidade fisiológica e sanitária das sementes de milho (*Zea mays*). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, p. 1-6, 2016.

DUARTE, R. C. **Estudo dos compostos bioativos de especiarias (*Syzygium aromaticum* L, *Cinnamomum zeylanicum* Blume e *Myristica fragans* Houtt) processadas por radiação ionizante**. 2014. 145 f. Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações). São Paulo – SP, 2014.

ELSKUS, A. A.; SMALLING, K. L.; HLADIK, M. L.; KUIVILA, K. M. Effects of two fungicide formulations on microbial and macroinvertebrate leaf decomposition under laboratory conditions. **Environmental Toxicology and chemistry**, v. 35, p. 2834-2844, 2016.

EMBRAPA. Doenças na Cultura do Milho. **Circular Técnica - 83**, EMBRAPA MILHO E SORGO, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Sete Lagoas - MG, v. 83, 1ª edição, 2006.

EMBRAPA. Histórico e Perspectivas das Doenças na Cultura do Milho. **Circular Técnica - 193**. Embrapa Milho e Sorgo, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Sete Lagoas - MG, v. 193, 1ª edição, 2013.

EMBRAPA. Ocorrência de podridão em espigas de milho em Sergipe. **Circular Técnica - 55**, Embrapa Tabuleiros Costeiros, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Aracaju – SE, vol. 55, 1ª edição, 2009. Disponível em <http://www.cpatc.embrapa.br>

EMBRAPA. Testes para Avaliação da Qualidade de Sementes de Feijão Comum. **Circular Técnica - 90**, Embrapa Arroz e Feijão, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Goiás - GO, v. 90, 1ª edição, 2013.

European Medicines Agency. **Assessment report on *Syzygium aromaticum* (L.) Merrill et L.M. Perry, flos and *Syzygium aromaticum* (L.) Merrill et L.M. Perry, floris aetheroleum**, 2011.

FAROOQ, M.; JABRAN, Z.A; CHEEMA, A.; WAHID, K.H.M. The role of allelopathy in agricultural pest management. **Pest Management Science**, v. 67, p. 493-506, 2011.

FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova na Escola**, São Paulo-SP, BR. v. 39, n° 2, p. 120-130, 2017.

FLÁVIO, N. S. D. S.; SALES, N. L. P.; AQUINO, C. F.; SOARES, E. P. S.; AQUINO, L. F. S.; CATÃO, H. C. R. M. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de sorgo tratadas com extratos aquosos e óleos essenciais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n 1, p. 7-20, 2014.

FLORES, L.; BANJAC, Z.; FARRÉ, M.; LARRAÑAGA, A.; MAS-MARRTÍ, E.; MUÑOZ, I.; BARCELÓ, D.; ELOSEGI, A. Effects of a fungicide (imazalil) and an insecticide (diazinon) on stream fungi and invertebrates associated with litter breakdown. **Science of The Total Environment**, v. 476–477, p. 532-541, 2014.

FREDDO, Á. R.; MAZARO, S.M.; BORIN, M.S.R.; BUSSO, C.; CECHIN, F.E.; ZORZZI, I.C.; DALACOSTA, N.L.; LEWANDOWSKI, A. Potencial do óleo essencial de erva-lúisa (*Aloysia citriodora* Palau) no controle de *Fusarium* sp. *in vitro*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.18, n. 2, p. 558-562, 2016.

FUTRELL, M.C. & KILGOORE, M. Poor stands of corn and reduction of root growth caused by *Fusarium moniliforme*. **Plant Disease Reporter**, v. 53, p. 213-215, 1969.

GAHUKAR, R.T.; MITAL, S. Castor Oil. In: NOLLET, L. M. L.; RATHORE, H. S. (Ed.) **Green Pesticides Handbook: Essential Oils for Pest Control**. Taylor & Francis, CRC Press, p. 554, 2017.

GAJERA, H. P.; BAMBHAROLIA, R. P.; PATEL, S. V.; KHATRANI, T. J.; GOALKIYA, B. A. Antagonism of *Trichoderma* spp. against *Macrophomina phaseolina*: Evaluation of Coiling and Cell Wall Degrading Enzymatic Activities. **Journal Plant Pathology Microbiology**, v. 3, n. 7 p. 149, 2012.

GALLI, J. A.; FESSEL, S. A.; PANIZZI, R. C. Effect of *Fusarium graminearum* and infection index on germination and vigor of maize seeds. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 30, n. 5, p. 470-474, 2005.

GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. V.; TROGELLO, E.; NETO, R. F. Sete décadas de evolução do sistema produtivo da cultura do milho. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, Suplemento, p. 819-828, 2014.

GAYOSO, C. W.; LIMA, E. O.; OLIVERA, V. T.; PEREIRA, F. O.; SOUZA, E. L.; LIMA, I. O.; NAVARRO, D. F. Sensitivity of fungi isolated from onychomycosis to *Eugenia caryophyllata* essential oil and eugenol. **Fitoterapia**, v. 76, p. 247–249, 2005.

GIRISGIN, A. O. Clove Oil. In: NOLLET, L. M. L.; RATHORE, H. S. (Ed.) **Green Pesticides Handbook: Essential Oils for Pest Control**. Taylor & Francis, CRC Press, p. 554, 2017.

GONÇALVES, A. H.; PEREIRA, A. S.; SANTOS, G. R. S.; GUIMARÃES, L. G. L. Atividade fungitóxica *in vitro* dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* Cham., *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf. e de seus constituintes majoritários no controle de *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.17, n.4, supl. III, p.1007-1015, 2015.

GONÇALVES, G.G.; MATTOS, L. P. V.; MORAIS, L. A. S. Óleos essenciais e extratos vegetais no controle de fitopatógenos de grãos de soja. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 2, p. 102-107, 2009.

GOULART, A.C.P.; FURLAN, S.H.; FUJINO, M.T. Controle integrado da ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) com o fungicida fluquinconazole aplicado nas sementes em

associação com outros fungicidas pulverizados na parte aérea da cultura. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 37, p. 113-118, 2011.

GUPTA, G. K.; SHARMA, S. K.; RAMTEKE, R. 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.

HADDI, K.; LÊDA R. A.; FARONI; OLIVEIRA, E. E. *Cinnamon Oil*. In: NOLLET, L. M. L.; RATHORE, H. S. (Ed.) **Green Pesticides Handbook: Essential Oils for Pest Control**. Taylor & Francis, CRC Press, p. 554, 2017.

HAMMER, O.; HARPER, D.A.T.; RYAN, P.D. Past: Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Paleontologia Electronica**, v.4, n.1, p.9, 2001.

HARMAN G.E.; HOWELL C.R.; VITERBO A.; CHET I.; LORITO M.; *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**. v. 2, p. 43-56, 2004.

HECK, D. W. **Supressividade a *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense por produtos orgânicos**. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP, Botucatu – SP. 2015.

INCA - Instituto Nacional do Câncer - Brasil. Posicionamento do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva acerca dos agrotóxicos. Rio de Janeiro: INCA, 2015.

JARDINE, D. F.; LACA-BUENDÍA, J. P. Eficiência de fungicidas no controle de doenças foliares na cultura do Milho. **FAZU em Revista, Uberaba**, n. 6, p. 11-52, 2009.

JULIATTI, F. C. Avanços no tratamento químico de sementes. **Informativo ABRATES**, v. 20, n. 3, p. 54-55, 2010. Disponível em:<<http://www.abrates.org.br/portal/images/stories/informativos/v20n3/minicurso03.pdf>>; Acesso: 16 de fevereiro, 2019.

JULIATTI, F. C.; NASCIMENTO, C.; REZENDE, A. A. Avaliação de diferentes pontas e volumes de pulverização na aplicação de fungicida na cultura do milho. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 36, n. 3, p. 216-221, 2010.

JÚNIOR, A. S. V.; LIMA, Y. C.; Produção de Milho no Nordeste. **Célula de Estudos e Pesquisas Macroeconômicas, Banco do Nordeste**, Diário Econômico, ETENE - Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste, Ano I - Nº 172, 2018.

KAUR, S.; DHILLON, G.S.; BRAR, S.K.; VALLAD, G.E.; CHAUHAN, V.B.; CHAND, R. Emerging phytopathogen *Macrophomina phaseolina*: biology, economic importance and current diagnostic trends. **Critical Reviews Microbiology**. v.38, n.2, p.136-151, 2012.

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.

KHANAM, Z.; AL-YOUSEF, H. M.; SINGH, O.; UL HAQ BHAT, I. Neem Oil. In: NOLLET, L. M. L.; RATHORE, H. S. (Ed.) **Green Pesticides Handbook: Essential Oils for Pest Control**. Taylor & Francis, CRC Press, p. 554, 2017.

KIMATI, H. Controle químico. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. ed. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. v. 1, p. 761-784 ,1995.

KOKETSU, M.; GONÇALVES, S. L. **Óleos essenciais e sua extração por arraste a vapor**. Embrapa - CTAA, Rio de Janeiro, p. 24, 1991.

KUMAR, K.; AMARESAN, N.; BHAGA, S.; MADHUR, K.; SRIVASTAVA, R. C. Isolation and Characterization of *Trichoderma* spp. for Antagonistic Activity Against Root Rot and Foliar Pathogens. **Indian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 2, p. 137-144, 2012.

KUNWAR, L.K.; SINGH, T.; MACHADO, C. C.; SINCLAIR, J.B. Histopathology of soybean seed and seedling infection by *Macrophomina phaseolina*. **Phytopathology**, v. 76, p. 532-535, 1986.

LIMA, L. D.; FREITAS, D. C. L.; JÚNIOR, N. R. F. C.; SANTOS, E. S.; WIGGERS, G. R.; SOARDI K.; MIRANDA, F. F. R. Resistência de cultivares de abacaxi à fusariose sob diferentes tratamentos. **Revista da Jornada da Pós-Graduação e Pesquisa**, 2017.

LIMONARD, T. A modified blotter test for seed health. **Netherland Journal of Plant Pathology**, Wageningen, v. 72, n. 2, p. 319-321, 1966.

LOPEZ-REYES J.G.; SPADARO, D.; PRELLE, A.; GARIBALDI, A.; GULLINO, M.L. Efficacy of plant essential oils on postharvest control of rots caused by fungi on different stone fruits *in vivo*. **Journal of Food Protection**, v. 76, n.4, p. 631-9, 2013.

LUÍS, A. J. **Características agronômicas do milho em função da cultura antecessora no sistema plantio direto.** Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Produção Vegetal). Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados – MS, 28f. il. 2014.

MACHADO, C. C. **Esporulação de *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid. e viabilidade do método de inoculação de esporos em estudos de seleção de germoplasma resistente.** Dissertação de mestrado Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz - ESALQ Piracicaba, p. 66, 1980.

MACHADO, J.C. **Patologia de Sementes: fundamentos e aplicações.** Lavras: ESAL/FAEPE, 1988.

MAHUKU, G. Maize pathology in Asia: opportunities and challenges for breeding disease-resistant maize. **Proceedings of the Asian Regional Maize Workshop**, v. 10, pp. 361-366, 2010.

MAMÉDIO, I. M. P. **Atividade Antifúngica de Cepas de Bactérias Lácticas e Extratos de Abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merrill) SOBRE *Fusarium guttiforme* Nirenberg & O'Donnell.** Dissertação do Programa de Pósgraduação em Recursos Genéticos Vegetais da UEFS, Feira de Santana – BA, 2017.

MARIANI, C. M.; HENKES, J. A. Agricultura orgânica x Agricultura convencional, soluções para minimizar o uso de insumos industrializados. **Revista Gestão e Sustentabilidade Ambiental**, Florianópolis, v. 3, n. 2, p. 315 - 338, 2015.

MARULANDA, V. A.; GUTIÉRREZ, C. D. B.; ALZATE, C. A. C. *Citronella* Oil. In: NOLLET, L. M. L.; RATHORE, H. S. (Ed.) **Green Pesticides Handbook: Essential Oils for Pest Control.** Taylor & Francis, CRC Press, p. 554, 2017.

MAYEK-PÉREZ N., LÓPEZ-CASTAÑEDA C., LÓPEZ-SALINAS E., CUMPIÁN-GUTIÉRREZ J., ACOSTA-GALLEGOS J.A. *Macrophomina phaseolina* resistance in common bean under field conditions in Mexico. **Agrociência**. v. 35, p. 649–661, 2001.

MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S.; Azevedo, J. L (Ed.). Controle Biológico. Jaguariúna: **Embrapa Meio Ambiente**, v. 1, p. 17-67, 1998.

MELO, L. G. L.; SILVA, E. K. C.; NETO, J. R. M. C.; LINS, S. R. O.; A. A. C. RODRIGUES; OLIVEIRA, S. M. A. Indutores de resistência abióticos no controle da

fusariose do abacaxi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.51, n.10, p.1703-1709, 2016.

MELO, T. M.; WOTTRICH, I.; LOUZADA J. A. E HELFER, F. Avaliação do atendimento da demanda hídrica da cultura do milho através da subirrigação. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, Fortaleza, v. 4, n. 4, p. 226-233, 2010.

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.

MENTEN, J.O.M. Prejuízos causados por patógenos associados às sementes. In: Menten, J.O.M. (Ed.) Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico. Piracicaba ESALQ/FEALQ, **Ciba Agro**, p. 115- 136, 1991.

MERTZ L.M.; HENNING F.A.; ZIMMER, P. D. Bioprotetores e fungicidas químicos no tratamento de sementes de soja. **Ciência Rural**. v. 39, p. 13-18, 2009.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D.E.G.T.; MENEZES, M. (Eds). **Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais**. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, Pernambuco. p. 2-398, 2005.

MONDEGO, J. M.; MELO, P. A. F. R.; PINTO, K. M. S.; NASCIMENTO, L. C.; ALVES, E. U.; BATISTA, J. L. Controle alternativo da microflora de sementes de *Pseudobombax marginatum* com óleo essencial de copaíba (*Copaifera* sp.). **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 2, p. 349-355, 2014.

MONTEIRO, T. S. A.; NASU, E. G. C.; GUIMARÃES, C. P.; NEVES, W. S.; MIZOBUTS, E. H.; FREITAS, L. G. Redução de inóculo de *Aphelenchoides besseyi* em sementes de *Brachiaria brizantha* tratadas com óleos essenciais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 7, p. 1149-1154, 2014.

MUCHERO, W.; EHLERS, J. D.; CLOSE, T. J.; ROBERTS, P. A. Genic SNP markers and legume synteny underlying QTL for *Macrophomina phaseolina* resistance and maturity in cowpea.pdf. **BMC Genomics**. v. 12, n. 8, p. 1-14, 2011.

- MUELLER, D.; WISE, K.; SISSON, A.; ALLEN, T.; BERGSTROM, G.; BOSLEY, D., ...WARNER, F. Corn yield loss estimates due to diseases in the United States and Ontario, Canada from 2012 to 2015. **Plant Health Progress**, p. 211-222, 2016.
- MUNHOZ, A. T.; CARVALHO, R. V.; QUERALES, P. J.; GONÇALVES, F. P.; CAMARGO, L. E. A. Relação entre resistência de linhagens tropicais de milho à podridão de espiga e ao acúmulo de fumonisinas provocados por *Fusarium verticillioides*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 41, n. 2, p. 144-148, 2015.
- MUNKYOLD, G. P.; WHITE, D. G. **Compendium of Corn Diseases**. American Phytopathological Society, 4th edn, St. Paul, MN, 2016.
- MYTLE, N.; ANDERSON, G. L.; DOYLE, M. P.; SMITH, M. A. Antimicrobial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil in inhibiting *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters. **Food Control**, v. 17, p. 102–107, 2006.
- NDIAYE, M.; MAME P. S.; CISSE, N.; NDOYE, I. Is the recently described *Macrophomina pseudophaseolina* pathogenically different from *Macrophomina phaseolina*. **African Journal of Microbiology Research**, v. 9, p. 2232 -2238, 2015.
- NDIAYE, M.; TERMORSHUIZENA, A.J.; VAN BRUGGEN, H.C. Effects of compost amendment and the biocontrol agent *Clonostachys rosea* on the development of charcoal rot (*Macrophomina phaseolina*) on cowpea. **Journal of Plant Pathology**. v. 92, p. 173–180, 2010.
- NOGUEIRA, S. R.; LIMA, F. S. O.; ROCHA, E. M.; ARAÚJO, D. H. M. Fungicidas no controle de fusariose do abacaxi no estado de Tocantins, Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 37, n. 4, p. 447-455, 2014.
- NONATO, C. V. F.; LAMEIRA, O. A.; OLIVEIRA E. C. P. Avaliação do óleo de *Copaifera reticulata* Ducke na inibição do crescimento micelial *in vitro* de fitopatógenos. **13º Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA**, 2009.
- NUNES, J. C. S. Tratamento de sementes profissional – equipamentos e processos. **Informativo ABRATES**, v. 20, n. 3, p. 57, 2010. Disponível em: <<http://www.abrates.org.br/portal/images/stories/informativos/v20n3/minicurso03.pdf>>; Acesso: 16 de fevereiro, 2019.

OGUNWANDE, I. A.; OLAWORE, N. O.; EKUNDAYO, O.; WALKER, T. M.; SCHMIDT, J. M.; SETZER, W. N. Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L. **International Journal of Aromatherapy**. v. 15, p. 147–152, 2005.

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.)**. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Fitossanidade) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, p. 111, 1991.

OLIVEIRA, R. A.; REIS, T. V.; SACRAMENTO, C. K.; DUARTE, L. P.; OLIVEIRA, F. F. Constituintes químicos voláteis de especiarias ricas em eugenol. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 3, p. 771-775, 2009.

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.

PACKER, J. F.; LUZ, M. M.S. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, nº 1, p. 102-107, 2007.

PAULA JÚNIOR, T.J.; VIEIRA, R.F.; TEIXEIRA, H.; COELHO, R.R.; CARNEIRO, J.E.S. ANDRADE, M.J.B.; REZENDE, A.M. **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na região central brasileira: 2007-2009**. EPAMIG-CTZM, Viçosa, Belo Horizonte. p. 180, 2008.

PAWAR, V. C.; THAKER, V. S. *In vitro* efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus niger*. **Mycoses**, v. 49, p. 316–323, 2006.

PEREIRA, J.C.R.; PEREIRA, J.R.; CASTRO, M.E.A.; GASPAROTTO, L. Ocorrência do mal-do-panamá em bananeira do subgrupo Figo, em Piau, Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira**. v. 30, n. 5, p. 574, 2005.

PEREIRA, O. A. P.; CARVALHO, R. V.; CAMARGO, A. L. E. Doenças no milho (*Zea mays*). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, M. J. A.; BERGAMIN, F. A.; CAMARGO, A. L. E. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. Piracicaba: Ceres, cap. 55, p. 477-488, 2005.

- PERINA, F. J. **Óleos essenciais e frações majoritárias ativas no controle da mancha marrom de alternaria (*Alternaria alternata*) em tangerina ponkan**. 2014. 112f. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2014.
- PHILLIPS, A. J. L.; ALVES, A.; ABDOLHZADEH, J.; SLIPPERS, B. WINGFIELD, M. J.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. The Botryosphaeriaceae: genera and species known from culture. **Studies in Mycology**, v. 76, p. 51–167, 2013.
- PIRES DE MATOS A. Pathological aspects of the pineapple crop with emphasis on the fusariosis. **Revista de la Facultad de Agronomia**, v. 21, n. 3/4, p. 179-197, 1995.
- PLOETZ, R. C. *Fusarium* Wilt of Banana. **Phytopathology**, v. 105, n. 12, 2015.
- PLOETZ, R. C. *Fusarium*-induced diseases of tropical, perennial crops. **Phytopathology**, v. 96, n. 6, p. 648-652, 2006.
- PLOETZ, R. C. Significant diseases in the tropics that are caused by species of *Fusarium*. In: SUMMERELL, B. A. et al. (Ed.). *Fusarium: Paul Nelson Memorial Symposium*. Saint Paul: **Amer Phytopathological Society**, p. 295-309, 2001.
- POLUNIN, M.; ROBBINS, C. **A Farmácia Natural**. Londres, Civilização, 1993.
- RADWAN O., ROUHANA L. V, HARTMAN GL, KORBAN S. S. Genetic mechanisms of host-pathogen interactions for charcoal rot in soybean. **Plant Molecular Biology Reporter**. v. 32, p. 617-629, 2014.
- RAGUCHANDER T., SAMIYAPPAN R., ARJUNAN G. Biocontrol of *Macrophomina* root rot of mungbean. **Indian Phytopathol**. v. 46, p. 379–382, 1993.
- RAMOS, D. P.; BARBOSA, R. M.; TORRES, B. G. L. V.; PANIZZI, R. C.; VIEIRA, R. D. Infecção por *Fusarium graminearum* e *Fusarium verticillioides* em sementes de milho. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 44, n. 1, p. 24-31, 2014.
- RAMOS, E. P. **Métodos alternativos no manejo da fusariose do abacaxizeiro “pérola”**. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2015.
- RAMOS, K.; ANDREANI JUNIOR, R.; KOZUSNY- ANDREANI, D.I. Óleos essenciais e vegetais no controle in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.18, n.2, supl. I, p.605-612, 2016.

- RANA, I. S.; RANA, A. S.; RAJAK, R. C. Evaluation of antifungal activity in essential oil of the *Syzygium aromaticum* (L.) By extraction, purification and analysis of its main component eugenol. **Brazilian Journal of Microbiology**, India, v. 42, p. 1269-1277, 2011.
- RATHORE, H. S. Green Pesticides for Organic Farming: Occurrence and Properties of Essential Oils for Use in Pest Control. In: NOLLET, L. M. L.; RATHORE, H. S. (Ed.) **Green Pesticides Handbook: Essential Oils for Pest Control**. Taylor & Francis, CRC Press, p. 554, 2017.
- RATHORE, H. S.; NOLLET, L. M. L. *Eucalyptus* Oil: Extraction, Analysis, and Properties for Use in Pest Control. In: NOLLET, L. M. L.; RATHORE, H. S. (Ed.) **Green Pesticides Handbook: Essential Oils for Pest Control**. Taylor & Francis, CRC Press, p. 554, 2017.
- RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 62, p 250-264, 2014.
- RAZAFIMAMONJISON, G.; JAHIEL, M.; DUCLOS, T.; RAMANOELINA, P.; FAWBUSH, F.; DANTHU, P. Bud, leaf and stem essential oil composition of clove (*Syzygium aromaticum* L.) from Indonesia, Madagascar and Zanzibar. **Nat Prod Commun**. v. 8, p. 1–7, 2013.
- REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F.; CASTELLUCCI, A. C. L. Processamento e industrialização do milho para alimentação humana. **Visão Agrícola**, nº 13, 2015.
- REIS, E. M.; CASA, R. T. **Doenças dos cereais de inverno: diagnose, epidemiologia e controle**. Embrapa Agropecuária Oeste. Lages: Graphel, 176 p., 2007.
- RIBEIRO, N.A., CASA, R.T., BOGO, A., SANGOI, L., MOREIRA, E.N., WILLE, L.A. Incidência de podridões do colmo, grãos ardidos e produtividade de grãos de genótipos de milho em diferentes sistemas de manejo. **Ciência Rural**, v. 35, p. 1003-1009, 2005.
- ROMERO, A. L.; ROMERO, R. B.; SILVA, E. L.; DINIZ, S. P. S. S.; OLIVEIRA, R. R.; VIDA, J. B. Composição química e atividade do óleo essencial de *Origanum vulgare* sobre fungos fitopatogênicos. **UNOPAR Científica. Ciências biológicas e da saúde**, v, 14, n. 4, p. 231-5, 2012.

- ROSA JR, O. F. **Efeito isolado e combinado de *Pratylenchus brachyurus* e *Fusarium verticillioides* no desenvolvimento de dois híbridos de milho.** Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) – Universidade Federal de Uberlândia – Uberlândia, 112 p., 2010.
- ROSSMAN, A. Y. The impact of invasive fungi on agricultural ecosystems in the United States. **Biological Invasions**, v. 11, n. 1, p. 97-107, 2009.
- SALEH, A. A. et al. Related nest of *Macrophomina phaseolina* isolates from tall grass prairie, maize, soybean and sorghum. **Molecular Ecology**, Malden, v. 19, n. 1, p. 79-91, 2010.
- SAMUELS, G. J. *Trichoderma*: Systematics, the Sexual State, and Ecology. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, 2006.
- SANTAMARINA M. P.; IBÁÑEZ M. D.; MARQUÉS M.; ROSELLÓ, J.; GIMÉNEZ, S.; BLÁZQUEZ, M. A. Bioactivity of essential oils in phytopathogenic and post-harvest fungi control. **Natural Product Research**, v. 31, n. 22, p. 2675-2679, 2017.
- SANTOS, A. S.; OLIVEIRA, L. C. L.; CURADO, F. F.; TAVARES, E. D.; DALMORA, E. Variedades Crioulas de Milho para a Realidade da Agricultura Familiar no Semiárido Sergipano. **Embrapa Tabuleiros Costeiros – Comunicado Técnico**, v. 190 - ISSN 1678-1937. Aracaju – SE. 2016.
- SANTOS, L. G. M.; CARDOSO, M. G.; LIMA, R. K.; SOUZA, P. E.; GUIMARÃES, L. G. L.; ANDRADE M. A. Avaliação do potencial fungitóxico do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) MERR & PERRY (cravo-da-índia). **TECNO-LÓGICA**, Santa Cruz do Sul, v. 11, n. 1, p. 11-14, 2007.
- SANTOS, P. L. **Efeito de óleos essenciais sobre o fungo *Phomopsis sojae* e a qualidade fisiológica de sementes de soja.** 2014. 51 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2014.
- SARR M.P; NDIAYE M.; GROENEWALD J.Z.; CROUS P.W. Genetic diversity in *Macrophomina phaseolina*, the causal agent of charcoal rot. **Phytopathologia Mediterranea**. v. 53, p. 163-173, 2014.
- SARTORI, A. F.; REIS, E. M.; CASA, R. T Quantificação da transmissão de *Fusarium moniliforme* de sementes para plântulas de milho. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 4, p. 456-458, 2004.

- SILVA, J. S.; OLIVEIRA, R. C.; DINIZ, S. P. S. S. Óleo essencial de *Mentha arvensis* L. como agente no controle de fungos fitopatógenos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 17, n. único, p. 99-100, 2012.
- SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; SEREJO, J. A. S; FERREIRA, C. F.; RODRIGUEZ, M. A. D. Melhoramento genético da bananeira: Estratégias e tecnologias disponíveis. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 3, p. 919-931, 2013.
- SILVA, W. R.; NUÑEZ, V. M.; FASOLIN, J. P.; RIVERA, J. F.; ANDZEIEWSKI, S.; FARIAS, C. J. Fungitoxicidade de óleos essenciais no crescimento micelial e esporulação de *Colletotrichum gloeosporioides*. **Fitopatología Colombiana**, v. Xxx, nº xxx, 2016.
- SILVEIRA, D. C.; BONETTI, L. P.; TRAGNAGO, J. L.; NETO, N.; MONTEIRO, V. Caracterização agromorfológica de variedades de milho crioulo (*Zea mays* L.) Na região noroeste do Rio Grande do Sul. **Revista Ciência e Tecnologia**, Rio Grande do Sul, v.1, n.1, p 01-11, 2015.
- SILVESTRI, J. D. F.; PAROUL, N.; CZYIEWSKI, E.; LERIN, L.; ROTAVA, I.; CANSIAN, R. L.; MOSSI, A.; TONIAZZO, G.; OLIVEIRA, D.; TREICHEL, H. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, n.5, p. 589-594, 2010.
- SLIPPERS, B. BOISSIN, E.; PHILIPS, A. J. L.; GROENEWALD, J. Z.; LOMBARD, L.; WINGFIELD, M. J.; POSTMA, A.; BURGESS, T.; CROUS, P. W. Phylogenetic lineages in the Botryosphaeriales: a systematic and evolutionary framework. **Studies in Mycology**, v. 76, p. 31–49, 2013.
- SNEH, B. Use of *Rhizosphere Chitinolytic* Bacteria for Biological Control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* in Carnation. **Journal of phytopathology**, v. 100, p. 251-256, 1981.
- SOFIA, P. K.; PRASAD, R.; VIJAY, V. K.; SRIVASTAVA, A. K. Evaluation of antibacterial activity of Indian spices against common food-borne pathogens. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 42, p. 910–915, 2007.
- SOUSA, G. G.; MARINHO, A. B.; ALBUQUERQUE, A. H. P.; VIANA, T. V. A.; AZEVEDO, B. M. Crescimento inicial do milho sob diferentes concentrações de biofertilizante bovino irrigado com águas salinas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 2, p. 237-245, 2012.

SOUZA, A. A.; DIAS, N. A. A.; PICCOLI, R. H.; BERTOLUCCI, S. K. V. Composição química e concentração mínima bactericida de dezesseis óleos essenciais sobre *Escherichia coli* enterotoxigênica. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.18, n.1, p.105-112, 2016.

SOUZA, L. P.; ZAGO, H. B.; PINHEIRO, P. F.; VALBON, W. R.; ZUIM, V.; PRATISSO, D. Composição química e toxicidade do óleo essencial de eucalipto sobre o ácaro-rajado. **Comunicata Scientiae**, v. 7, n. 4, p. 486-493, 2016.

SU, G.; SUH, S.O.; SCHNEIDER, R.W.; RUSSIN, J. S. Host specialization in the charcoal rot fungus, *Macrophomina phaseolina*. **Phytopathology**. v. 91, p. 120–126, 2001.

SUGUMAR, N.; KARTHIKEYAN, S.; GOWDHAMI, T. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil from *Eupatorium triplinerve* Vahl. Aerial Parts. **International Letters of Natural Science**, v. 4, p. 14-21, 2015.

TAKESHITA, V.; OLIVEIRA, F. F., WITT, F. A. P., RIBEIRO, L. F. C. Efeito inibitório de extratos vegetais da Família *Allioideae* sobre *guignardia citricarpa* - agente causal da mancha preta em *citrus*. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v. 10, n. 19, p. 906-919, 2014.

TAMPIERI, M. P.; GALUPPI, R.; MACCHIONI, F. et al. The inhibition of *Candida albicans* by selected essential oils and their major components. **Mycopathologia**. v. 159, p. 339–345, 2005.

TANAKA, M.A.S. & BALMER, E. Efeito de temperatura e dos microorganismos associados ao tombamento na germinação de sementes de milho (*Zea mays* L.) **Fitopatologia Brasileira**, v. 5, p. 87-93, 1980.

THANGAVELU, R.; GOPI, M. Field suppression of *Fusarium* wilt disease in banana by the combined application of native endophytic and rhizospheric bacterial isolates possessing multiple functions. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 54, p. 241–252, 2015.

TRIPATHI, A. K.; UPADHYAY, S.; BHUYAN, M.; BHATTACHARYA, P. R. A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy**, v. 1, n. 15, p. 52–63, 2009.

UGULINO, A.L.N.; MENDONÇA JÚNIOR, A.F.; RODRIGUES, A.P.M.; SANTOS, A.B.; FRANÇA, K.R.S.; CARDOSO, T.A.L.; PRADO JÚNIOR, L.D. Inhibition Effect of

Vegetable Oils on the Mycelial Growth of *Macrophomina phaseolina* (Tassi.). Goid. **Journal of Agricultural Science**, v.10, n. 6, p. 49-56, 2018.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **World Agricultural Production**. Circular Series WAP 3-19, March 2019. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf>>. Acesso em: 21 de março 2019.

VENTURA, J. A.; ZAMBOLIM, L. Controle das doenças do abacaxizeiro. In: ZAMBOLIM, L. et al. (Ed.). **Controle de doenças de plantas: fruteiras**. Viçosa, MG: UFV, v. 1. p. 445-510, 2002.

VIGAN, M. Essential oils: renewal of interest and toxicity. **European Journal of Dermatology**, v. 20, n. 6, p. 685-92, 2010.

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; WOO, S. L.; LORITO, M. *Trichoderma* – plant – pathogen interactions. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, p. 1-10, 2008.

VORIS, D. G. R.; AFONSO, C. H. V.; ALMEIDA FILHO, C. A. C.; FERNANDES, C. O. J.; BRITO, D. Q. M.; MORAES, C. S.; LIMA, K. S. C.; LIMA, J. B. P.; MIRANDA, M. G.; AVELAR, K. E. S.; FRIEDE, R.; LIMA, A. L. S. Ethnopharmacological studies of essential oils with larvicidal activity against *Aedes aegypti* mosquito. **Revista Semioses**, v 11, n.01, 2017.

WAINWRIGHT, M. Effects of fungicides on the microbiology and biochemistry of soils - a review. **Journal of plant nutrition and soil science**. v. 140, p. 587-603, 1977.

WAINWRIGHT, M.; PUGH, G. J. F. Effect of fungicides on the numbers of microorganisms and frequency of cellulolytic fungi in soils. **Plant and Soil**, v. 43, p. 561-572, 1975.

WAITHAKA, P. N.; GATHURU, E. M.; GITHAIGA, B. M.; KIMANI, S. N. Control of Passion Fruit Fungal Diseases Using Essential Oils Extracted from Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and Eucalyptus (*Eucalyptus agglomerata*) in Egerton University Main Campus Njoro, Kenya. **International Journal of Microbiology**. v. 2017, p. 1-6, 2017.

WORDELL FILHO, J.A.; RIBEIRO, L. do P.; CHIARADIA, L.A.; MADALÓZ, J. C.; NESI, C.N.; Pragas e doenças do milho: diagnose, danos e estratégias de manejo. **Boletim Técnico**,

170, Epagri - Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina. 82p., 2016.

WRATHER J.A.; ANDERSON, T.R.; ARSYAD, D.M.; TAN, Y.; PLOPER, L.D.; PORTA-PUGLIA, A.; RAM, H.H.; YORINORI, J.T. Soybean disease loss estimates for the top 10 soybean producing countries in 1998. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 23, p. 115–221, 2001.

WRATHER, J.A.; ANDERSON, T.R.; ARSYAD, D.M.; GAI, J.; PLOPER, D.L.; PORTA-PUGLIA, A.; RAM, H.H.; YORINORI, J.T. Soybean disease loss estimates for the top 10 soybean producing countries in 1994. **Plant Disease**, v. 81, n. 1, p. 107-110, 1997.

WYLLIE T.D. Charcoal rot of soybean-current status. In Soybean Diseases of the North Central Region. Edited by Wyllie TD, Scott DH. St. Paul: APS; p. 106–113, 1988.

XING, F.; HUA, H.; SELVARAJ, J. N.; ZHAO, Y.; ZHOU, L.; LIU, X.; LIU, Y. Growth inhibition and morphological alterations of *Fusarium verticillioides* by cinnamon oil and cinnamaldehyde. **Food Control**, v. 46, p. 343-350, 2014.

YAMAMOTO-RIBEIRO, M. M. G.; GRESPAN, R.; KOHIYAMA, C. Y.; FERREIRA, F. D; MOSSINI, S. A. G; SILVA, E. L; FILHO, B. A. A; MIKCHA, J. M; MACHINSKI, M. Jr. Effect of *Zingiber officinale* essential oil on *Fusarium verticillioides* and fumonisin production. **Food Chemistry**, v. 141, n. 3, p. 3147-3152, 2013.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R. do; CHAVES, G.M. **Controle químico de doenças de plantas**. Brasília: ABEAS, 307p., 1995.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R. do; SILVA, M.B. da. **Controle de doenças de plantas**. Brasília: ABEAS, 120p., 1997.