



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA  
CURSO DE AGRONOMIA**

**ANTONIA RAPHAELLY DOS SANTOS AMORIM**

**CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA  
PARA PATÓGENOS DE DOENÇAS NA PÓS-COLHEITA DE MAMÃO (*Carica papaya*  
*L.*)**

**FORTALEZA**

**2017**

ANTONIA RAPHAELLY DOS SANTOS AMORIM

CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA PARA  
PATÓGENOS DE DOENÇAS NA PÓS-COLHEITA DE MAMÃO (*Carica papaya L.*)

Monografia apresentada ao Curso de  
Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da  
Universidade Federal do Ceará, como requisito  
parcial para obtenção do Título de Bacharel em  
Agronomia.

Orientador: Prof. Patrik Luiz Pastori, D. Sc.  
Coorientadora: Andréia Hansen Oster. D. Sc

FORTALEZA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- S233c Santos Amorim, Antonia Raphaelly dos.  
Caracterização de óleos essenciais e atividade antifúngica para patógenos de doenças na pós-colheita de mamão (*Carica papaya* L.) / Antonia Raphaelly dos Santos Amorim. – 2017.  
67 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Agronomia, Fortaleza, 2017.  
Orientação: Prof. Dr. Patrik Luiz Pastori.  
Coorientação: Profa. Dra. Andréia Hansen Oster.
1. Podridão pós-colheita. 2. Controle Alternativo.. 3. Fungos. I. Título.

CDD 630

---

ANTONIA RAPHAELLY DOS SANTOS AMORIM

CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA PARA  
PATÓGENOS DE DOENÇAS NA PÓS-COLHEITA DE MAMÃO (*Carica papaya L.*)

Monografia apresentada ao Curso de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Agronomia.

Orientador: Prof. Patrik Luiz Pastori, D. Sc.  
Coorientadora: Andréia Hansen Oster. D. Sc.

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Patrik Luiz Pastori, *D. Sc.* (Orientador pedagógico)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Andréia Hansen Oster *D. Sc.* (Orientador técnico)  
Pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical

---

Christiana de Fátima Bruce da Silva, *D. Sc.*  
Pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical

---

Jorgiane da Silva Severino Lima, *M.Sc*  
Eng. de Alimentos

A Deus.

Aos meus pais, Antonilda e Francisco.

## AGRADECIMENTOS

À Deus que sempre conduziu minha vida sob sua proteção, juntamente com Maria Santíssima que até aqui iluminou meus passos.

Aos meus pais, Antonilda e Francisco por todo amor, dedicação, paciência e principalmente pela doação de vida.

Aos meus avós Antonia Valdeci e José Ferreira que sempre batalharam para que eu sempre pudesse ter uma boa educação e assim me ensinaram que é preciso algo além da força para vencer os obstáculos da vida.

À minha avó Maria Nilda que com sua paixão pelas plantas também me ensinou a importância delas na minha vida e assim então me ensinou a amá-las.

Aos meus tios e primos que muito me engrandeceram com tanto amor dedicado.

À Dra. Andréia Hansen Oster, pela maravilhosa orientação, dedicação, carinho e amizade que pretendo levar por toda minha vida.

Ao Prof. Patrik Luiz Pastori, pela excelente orientação, paciência e profissionalismo.

À Dra. Christiana Silva e à Doutoranda Jorgiane Lima, participantes da banca examinadora pelo tempo dedicado, pelas valiosas colaborações e críticas construtivas.

Aos caríssimos amigos de turma, Mário Rógeson, Caio Bezerra, Lidiane Olímpio, Maria Risocleuda, Janaína Castro, Tiago Rodrigues, Jharine Xavier, Pedro Sousa, Flaviene Brito pelas vezes que me incentivaram a seguir em frente de cabeça erguida, caminharam comigo quando precisei e me ensinaram que fazer amigos é um dom, grata.

Aos meus amigos do Laboratório de Patologia Pós-colheita, Ageu Cardoso, Gina Sena, Carlos Pinheiro, Carol Bento, por toda amizade, carinho e companheirismo que conseguimos manter durante esse tempo de trabalho e que Deus possa nos manter sempre por perto pelos próximos anos.

Aos meus amigos da vida, Marta Lima, Géssica Lima, Raquel Bento, Leina Mara, Heri Jhonson, Jarderson Brasil por todas as vezes que foi preciso eu desmarcar aqueles encontros e sumir por uns tempos e ainda pude contar com a compreensão, a oração, o amor e a amizade de vocês, sou grata.

Ao meu querido noivo, Eduardo Silva que tanto me apoiou, amou, segurou pela mão durante meus momentos de incertezas, muitas vezes me carregou pelos obstáculos da vida, ensinou e incentivou a seguir sempre, esteve comigo nas horas mais complicadas e me deu a família mais linda do mundo. Assim como também agradeço aos meus amados filhos,

Caio Eduardo e Kelvin Eduardo, que com as atitudes mais simples me amaram e me fizeram ver o quanto é linda e especial a minha família.

Aos muitos que colaboraram para o desenvolvimento do meu trabalho de conclusão de curso como o Pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, Dr. Kirley Canuto, que disponibilizou os óleos essenciais e as análises, sou muito grata.

À Embrapa Agroindústria Tropical, por toda a estrutura do laboratório e incentivo através da bolsa de estágio o que possibilitou a realização deste trabalho.

Agradeço a todos de coração e desejo que Deus ilumine a vida de cada um que esteve envolvido durante essa caminhada!

## RESUMO

A fruticultura é um setor de suma importância para o agronegócio brasileiro, e dentre as frutas mais produzidas se destaca a cultura do mamoeiro. Um dos entraves que dificultam a máxima produção da cultura são as doenças pós-colheita, levando a grandes perdas econômicas. Basicamente, essas doenças são controladas com fungicidas, porém muitos dos produtos estão sendo proibidos no mercado e alternativas menos agressivas ao ambiente vem sendo procurada por parte dos consumidores. Há uma demanda crescente para a descoberta de novos compostos químicos de origem vegetal aproveitando a diversidade da flora brasileira. Assim, o uso de óleos essenciais de plantas pode se tornar uma prática alternativa para o controle de doenças pós-colheita de frutas. O presente trabalho objetivou avaliar *in vitro* o efeito dos óleos essenciais de Alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*), Manjericão (*Ocimum micranthum*), Capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) como alternativa de controle do crescimento micelial de isolados de fungos dos gêneros *Alternaria*, *Colletotrichum* e *Lasiodiplodia*, causadores de podridões pós-colheita em frutos de mamoeiro. Foram realizados dois ensaios, onde os óleos foram incorporados ao meio de cultura BDA, nas concentrações 0, 500, 1000 e 1500  $\mu\text{L.L}^{-1}$  no ensaio 1; e 0, 250, 750, 1500 e 2000  $\mu\text{L.L}^{-1}$  no ensaio 2. O delineamento experimental utilizado foi o Inteiramente Casualizado (DIC), com quatro concentrações de óleos para cada patógeno (Ensaio 1) e cinco concentrações (Ensaio 2), com 3 repetições. Foi calculada a percentagem de inibição do crescimento micelial (IC %). As médias da percentagem de inibição crescimento foram submetidas à análise de variância e ao teste de Tukey a 5% de probabilidade (Sisvar 5.6.) e análises de regressão foram ajustadas as equações e estimadas as doses efetivas medianas ( $ED_{50}$ ). Os resultados obtidos indicaram que todos os óleos essenciais são eficientes na inibição dos patógenos testados *in vitro* e que existe respostas distintas na inibição do crescimento dependendo das espécies dos patógenos. E que os óleos essenciais de Alecrim-pimenta e de Capim-limão são os que apresentaram maior e menor toxicidade, respectivamente.

**Palavras-chave:** Podridão pós-colheita. Controle Alternativo. Fungos.



## ABSTRACT

Fruit growing is a sector of great importance for Brazilian agribusiness, and among the most produced fruits stands the papaya crop. One of the obstacles hindering the maximum production of the crop is the postharvest diseases, leading to great economic losses. These diseases are controlled with fungicides, however many of the products are being banned in the market and alternatives less aggressive to the environment are being sought by consumers. There is a growing demand for the discovery of new chemical compounds of vegetal origin taking advantage of the diversity of Brazilian flora. Thus, the use of plant essential oils may become an alternative practice for controlling postharvest disease of fruits. The goal of this study was to evaluate the effect of the essential oils of Alfavaca-clovo (*Ocimum gratissimum*), Basil (*Ocimum micranthum*), Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) and Rosemary (*Lippia sidoides*) as an alternative to control the mycelial growth of isolated from *Alternaria*, *Colletotrichum* and *Lasiodiplodia*, causing postharvest rots in papaya fruits. Two assays were performed, where the oils were incorporated into the BDA culture medium at concentrations 0, 500, 1000 and 1500  $\mu\text{L.L}^{-1}$  in assay 1; and 0, 250, 750, 1500 and 2000  $\mu\text{L.L}^{-1}$  in assay 2; (DIC), with four concentrations of oils for each pathogen (Assay 1) and five concentrations (Assay 2). The experimental design was completely randomized with 3 replicates. Percent inhibition of mycelial growth (IC%) was calculated. The mean growth inhibition percentages were submitted to analysis of variance and to the Tukey test at 5% probability (Sisvar 5.6) and the regression analyzes were adjusted to the equations and the median effective doses ( $\text{ED}_{50}$ ) were estimated. The results indicated that all essential oils are efficient in inhibiting the pathogens tested in vitro and there are distinct responses on growth inhibition depending on the species of the pathogens. The essential oils of Rosemary-pepper and Lemongrass are the ones that presented greater and lesser toxicity, respectively.

**Keywords:** Postharvest rot. Alternative Control. Fungi.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	9
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	11
2.1 Importância econômica da cultura do mamoeiro .....	11
2.2 Doenças pós-colheita.....	12
2.3 Agentes causadores de doenças em mamão na pós-colheita .....	13
2.4 Óleos essenciais no controle de doenças na pós-colheita.....	16
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	20
3.1 Local dos experimentos .....	20
3.2 Obtenção dos isolados .....	20
3.3 Extração dos óleos essenciais .....	21
3.4 Caracterização química dos óleos essenciais .....	22
3.5 Atividade antifúngica dos óleos essenciais <i>in vitro</i> .....	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	26
4.1 Identificação e quantificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais .....	26
4.2 Ensaio 1 - Efeito dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial de isolados de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , <i>Alternaria alternata</i> e <i>Lasiodiplodia theobromae</i> .....	31
4.3 Ensaio 2 - Efeito dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial de isolados de diferentes fitopatógenos .....	36
4.4 Valores de ED <sub>50</sub> .....	51
5 CONCLUSÕES .....	56
REFERÊNCIAS .....	57

## 1 INTRODUÇÃO

De acordo com dados da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação – FAO (2016), em 2013 o Brasil foi o terceiro maior produtor mundial de frutas e continua a se destacar nos últimos anos como importante produtor, consumidor e exportador de frutas tropicais, expandindo o agronegócio e buscando adequações para atender ao mercado consumidor.

Dentre as frutas mais produzidas no país se destaca o cultivo de mamão (*Carica papaya* L.), onde a atividade gera renda de R\$ 1,2 bilhão e apresenta estabilidade, apesar das adversidades enfrentadas nas regiões produtoras, tais como os problemas fitossanitários, o elevado custo de produção, e da que a escassez hídrica na região Nordeste (BRAPEX, 2015).

As doenças causadas por fungos constituem um fator limitante na produção, comercialização e exportação do mamão *in natura*, exigindo, portanto, medidas adequadas de controle (SILVEIRA et al, 2005). Essas doenças, geralmente as podridões, têm contribuído para a redução da qualidade das frutas, destacando-se os tipos de infecções quiescentes, típicas de doenças de pré-colheita e aquelas específicas de pós-colheita. Todos os estágios da cultura são suscetíveis a uma ou mais doenças, e o êxito da produção dependerá exclusivamente da maior ou menor incidência das mesmas, o que, por sua vez, resulta, em grande parte, da adoção de medidas preventivas adequadas (MARTINS; FARIAS, 2002).

As podridões causadas pelos diversos patógenos, como a podridão-por-*Alternaria*, podridão-por-*Lasiodiplodia* e podridão peduncular ocorrem frequentemente causando grandes prejuízos econômicos. Dentre as doenças mais frequentes se destaca a antracnose, uma das doenças mais importantes que ocorrem na cultura do mamoeiro, podendo afetar folhas, ramos e frutos e em todas as fases de desenvolvimento da planta, causando grandes prejuízos (CASTRO et al, 2006).

Atualmente o controle dessas doenças na fase pós-colheita é realizado com o uso de fungicidas, que podem resultar em frutos com a presença de resíduos nocivos à saúde. O uso excessivo de agrotóxicos nessa fase tem sido uma das restrições impostas pelo mercado externo, devido à crescente demanda por produtos de boa aparência e qualidade, aliada ao menor uso de agrotóxicos. Esta demanda tem exigido das Instituições de Pesquisa estudos e desenvolvimento de novas alternativas, tais como a possibilidade do uso de óleos essenciais vegetais como antimicrobianos, em substituição aos produtos químicos tradicionais utilizados no manejo fitossanitários nas fases de produção e pós-colheita dos frutos, visando a segurança

alimentar e a proteção ambiental (ROZWALKA, 2003; GUIRALDO et al. 2004; CERDEÑO, 2006; OLIVEIRA et al., 2006).

Os óleos essenciais apresentam propriedades antimicrobianas que são significativamente reconhecidas quanto ao seu potencial no controle de fitopatógenos, devido à sua ação fungitóxica. Estas são responsáveis pela inibição do crescimento micelial, germinação de esporos e diminuição do período latente (OLIVEIRA et al., 2008; MILANESI et al, 2009).

Diversos trabalhos têm mostrado efeitos positivos com o uso de óleos essenciais ou seus componentes no controle de fungos (NERI; MARI; BRIGATI, 2006; TAO; JIA; ZHOU, 2014; BOMFIM et al., 2015). Os óleos essenciais de tomilho, orégano e capim-limão incorporados ao meio de cultura inibiram completamente o crescimento micelial *in vitro* de *Botrytis cinerea* e *Alternaria arborescens*, e a vaporização dos óleos essenciais de tomilho e orégano inibiram o crescimento de *Rhizopus stolonifer* em 69 e 64%, respectivamente (PLOTTO; ROBERTS; ROBERTS, 2003). Pode-se encontrar diversos trabalhos que relatam o efeito de óleos essenciais sobre a inibição do crescimento de diferentes fungos *in vitro*.

Diante da problemática exposta, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito *in vitro* dos óleos essenciais de Alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*), Manjerição (*Ocimum micranthum*), Capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) na inibição do crescimento micelial de isolados fúngicos dos gêneros *Alternaria*, *Colletotrichum* e *Lasiodiplodia*, causadores de podridões pós-colheita em frutos de mamão.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Importância econômica da cultura do mamoeiro

Diante do agronegócio brasileiro a fruticultura é um dos setores de ampla importância econômica. Os diferentes climas e a diversidade das culturas são fatores que permitem que o setor alcance resultados relevantes para a economia do país.

Nos últimos anos, a demanda por frutas *in natura* tem estimulado o aumento da produção nacional. Em 2014 o Brasil chegou a produzir 823.284 toneladas de frutas frescas, sendo o 8º país que mais produziu frutas no mundo, sendo esta demanda liderada pela Índia que produziu 5.997.490 toneladas. (FAO, 2014). Em 2015, o valor da produção desses produtos foi avaliado em R\$ 26,5 bilhões, quando comparado com o valor obtido em 2014, houve um acréscimo de 3,4% de acordo com a Produção Agrícola Municipal – PAM (IBGE,2015).

Das frutas que são mais produzidas se destacam: banana (21,9%), laranja (21,3%), uva (8,8%), abacaxi (8,4%), maçã (5,0%), melancia (4,7%) e o mamão (4,4 (IBGE, PAM, 2015).

Os estados brasileiros que se destacam na fruticultura avançam juntamente com a tecnologia e atingem a qualidade exigida para os mercados externos. O Ceará teve maior participação no *ranking* da exportação no ano de 2016, chegando a exportar 24,32% de todas as frutas exportadas pelo país (incluindo nozes e castanhas), seguido do Rio Grande do Norte (16,76%), Bahia (15,58%), São Paulo (15,51%) e Pernambuco (14,29%) (AGROSTAT, 2016).

Diante dos resultados alcançados nos últimos anos e da visão promissora que o setor possui, alguns desafios para a fruticultura são esperados, já que o mercado externo se apresenta cada vez mais exigente. Alguns fatores como a qualidade das frutas, as inovações das tecnologias, práticas sustentáveis durante a produção, o avanço no desenvolvimento das exportações, o controle de pragas e doenças, o desperdício de frutas, podem ser alguns dos desafios que poderão ser transformados em oportunidades (SEBRAE, 2015).

A produção mundial de mamão atingiu pouco mais de 12,6 milhões de toneladas em 2014, sendo 1,6 milhão de toneladas produzidas pelo Brasil, o que corresponde a aproximadamente 12,65% da produção do mundo. O país que mais produziu mamão no ano foi a Índia (5.639.300 toneladas) liderando o *ranking* e deixando o Brasil em 2º lugar na produção do fruto, seguido da Nigéria (3º), Indonésia (4º) e do México (5º) (IBGE/PAM, 2015).

O Brasil também apresenta potencial para ser um forte exportador de mamão, em 2016 chegou a exportar 37.938,6 toneladas da fruta fresca. Já em termos estaduais, 11,7% do mamão exportado do Brasil foi proveniente do Ceará. (AGROSTAT, 2016). Mostrando que mesmo diante a adversidade hídrica vivenciada nos últimos anos de estiagem é possível produzir. Os países que mais importam a fruta são Estados Unidos e Cingapura. (FAOSTAT, 2015).

Apesar de ser um forte produtor de mamão, o Brasil ainda não possui alto potencial de competitividade para entrar no mercado da exportação, isso pode ser visto quando apenas 2% do mamão produzido no Brasil é direcionado à exportação. Tal problemática pode ser atribuída a diversas causas, além das exigências e barreiras fitossanitárias dos países importadores, as perdas podem acontecer devido aos danos mecânicos durante a colheita, o aparecimento de podridões, o alto custo do transporte e a qualidade, o que acarreta na redução da competitividade da fruta no mercado externo (IBGE, PAM, 2015).

Apesar da conjuntura econômica favorável à cultura do mamoeiro, existem alguns entraves que dificultam a sua expansão no País, a exemplo das doenças e do pequeno número de variedades disponíveis para plantio, que atendam às exigências dos mercados interno e externo (SILVA, 2016).

## **2.2 Doenças pós-colheita**

As doenças são a maior causa das perdas pós-colheita de mamões, afetando, na maioria das vezes até 100% dos frutos, demandando do produtor ou da empresa exportadora uma rápida logística entre a colheita e a comercialização, obrigando os exportadores a enviarem os frutos por transporte via modal aéreo, o que aumenta os custos de comercialização do mamão.

Durante o desenvolvimento dos frutos e após sua colheita, a resistência natural a doenças geralmente declina resultando nos inevitáveis processos de infecção e doença. Em frutos, as doenças pós-colheita causadas por fungos usualmente são provenientes de infecções quiescentes, estabelecidas no campo, ou de infecções por ferimentos, originados durante subsequente colheita e manuseio (CIA, 2005).

Além dos fatores que reduzem a vida pós-colheita, frutos como o mamão apresentam padrão respiratório do tipo climatérico, cuja maturação continua após a colheita, o declínio da resistência natural dos frutos pode ativar infecções quiescentes e o aumento da

incidência e/ou severidade da doença o que os predispõem a um grande número de doenças que se manifestam somente na fase pós-colheita, apesar das infecções ocorrerem na fase pré-colheita (JACOMINO et al., 2002; CIA, 2005; FONTES et al., 2008).

Entre as doenças pós-colheita do mamão a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, é a mais comum, sendo difundida em todo o mundo (CASARRUBIAS –CARRILLO et al., 2002). É uma doença que limita a vida útil dos frutos tanto durante o armazenamento, quanto durante o transporte e a comercialização. Existem ainda outros fungos, não menos importantes, associados às doenças pós-colheita, como: as podridões causadas por *Fusarium* spp, *Alternaria* spp, *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium digitatum*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Guignardia* spp. e *Cercospora papayae*; a mancha-chocolate, também causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, a pinta preta ou varíola (*Asperisporium caricae*) ocorre no campo, porém seus sintomas permanecem na fase pós-colheita e dificultam a comercialização.

Atualmente, o controle fitossanitário em pós-colheita de mamões está restrito ao uso de poucos fungicidas a base de imazalil e tiabendazol. O uso de fungicidas tem sido um problema, visto que alguns tratamentos afetam o processo de amadurecimento natural dos frutos e podem selecionar estirpes resistentes de fungos devido ao seu uso permanente (GAMAGAE et al., 2003). Além disso, esses fungicidas podem ser potencialmente prejudiciais ao homem, ocasionando doenças e infecções, e ao meio ambiente, afetando o equilíbrio dos ciclos de vida das diversas espécies de animais e vegetais, tonando seu uso progressivamente limitado ou proibido.

## **2.3 Agentes causadores de doenças em mamão na pós-colheita**

### **2.3.1 *Colletotrichum gloeosporioides***

O *Colletotrichum* é considerado um dos gêneros de maior importância em relação a patógenos de plantas. São várias as espécies pertencentes a esse gênero, onde essa espécie ataca uma grande variedade de culturas em todo o mundo, entre elas, cereais, legumes e frutas (BONETT et al., 2012). O *Colletotrichum gloeosporioides* Penz é o agente etiológico de maior incidência, seguido por *Phoma caricae-papaye*, quando relacionado a podridão peduncular (NERY-SILVA et al., 2007).

*C. gloeosporioides*, pertence à ordem Phyllachorales e à família Glomerellaceae é o agente causal da antracnose, considerada uma das mais importantes doenças do mamão, conhecida em todos os países produtores, incluindo Havaí, a região Caribenha, leste e oeste

africanos, a Índia, o Taiwan, a Singapura e a Austrália. (INFORME AGROPECUÁRIO, 2005).

Os conídios desse patógeno são hialinos e unicelulares, dispostos em círculos, formados em conjuntos de coloração salmão, retos e cilíndricos, com ápices obtusos, bases as vezes truncadas, medem 12-17  $\mu\text{m}$  x 3,5-6  $\mu\text{m}$ . Apressórios são clavados, ovoides, obovados ou lobados, de coloração castanha, medem 6-20  $\mu\text{m}$  x 4-12  $\mu\text{m}$ . Formam colônias variáveis de coloração branco-gelo a cinza escuro e micélios aéreos, geralmente uniformes, aveludados (DIAS, 2014).

Durante a infecção no fruto, os conídios são liberados dos acérvulos através de uma massa viscosa de coloração rosada a salmão e seus esporos germinam e formam apressório na superfície do fruto. Em condições de alta umidade, os conídios são expostos e envoltos por uma massa mucilaginosa rosada e as altas temperaturas favorecem a infecção do fungo nos frutos. Períodos de umidade prolongada e uma película de água livre sobre os tecidos são condições ideais para a infecção e desenvolvimento do patógeno. A disseminação ocorre através da água (enxurrada ou respingos da chuva), movimento do solo, transporte de material infectado como mudas, sementes e frutos, pelo vento, insetos e por meio de ferramentas contaminadas (TAVARES, 2005; DIAS, 2014).

Os principais sintomas da antracnose são lesões grandes, arredondadas, necróticas e bordos ligeiramente elevados com o centro dos tecidos deprimidos, nos quais são produzidas massas de conídios alaranjados. Os sintomas iniciam com manchas pardo avermelhadas que se estendem por todo o fruto, depois formam pontuações escuras levemente salientes na casca dos frutos. Quando não controlada adequadamente a doença pode afetar 100% do fruto, levando à sua perda (JÚNIOR; MELLO; JÚNIOR, 2006).

A antracnose acarreta prejuízos à produção de diversas frutíferas como a pinha (*Annona squamosa* L.) e a graviola (*Annona muricata* L.) (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 2014; KAMEI et al., 2014), maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener) (ARAÚJO NETO, 2014), e morango (*Fragaria anassa* x *Duch*) (MONTEIRO, 2017).

### **2.3.2 *Alternaria alternata***

O gênero *Alternaria* contém um grande número de espécies, com mais de 40 delas relatadas como patógenos das plantas é um dos principais grupos causadores de infecção quiescente em pós-colheita de frutos e hortaliças, e dentre essas estão às cucurbitáceas (ZAMBOLIM et al., 2002).



O gênero pertence à ordem Pleosporales e à família Pleosporaceae, é composto por fungos anamórficos que possuem conídios com comprimento e largura variável, geralmente individuais e raramente catenulados, retos ou ligeiramente curvos, com corpo oblongo ou elipsoidal que se afina em direção ao ápice, formando um bico comprido, sinuoso e ocasionalmente ramificado. Apresentam coloração palha, parda ou ouro claro, com septos transversais e poucos ou nenhum longitudinal. Os conídios são inseridos em conidióforos septados, retos ou sinuosos, que ocorrem isolados ou em grupos. As populações de *A. alternata* são caracterizadas por se apresentarem morfológicamente heterogêneas, diferindo quanto à coloração do micélio, produção de pigmentos em meio de cultura, presença ou ausência de esporulação em condições de laboratório, bem como, quanto à patogenicidade e agressividade (ALVES, 2014; TÖFOLI; DOMINGUES; FERRARI, 2015).

O fungo *A. alternata* é o agente causal da doença chamada mancha-de-alternaria, caracterizada por lesões circulares a ovais negras e cobertas por uma massa de conídios pretos ou micélios brancos do patógeno. Pode sobreviver nos restos de cultura, e também como epífita ou parasita em outras plantas. Como principal forma de disseminação a longas distâncias estão as sementes contaminadas ou infectadas por conídios. Ventos, tempestades, água de chuva e irrigação também disseminam o fungo para outras partes do campo ou para campos vizinhos. Temperaturas entre 16-18°C, acompanhadas de alta umidade, favorecem o desenvolvimento da doença. (VENTURA, 2003; ALVES, 2014).

A podridão-de-alternaria causada por *Alternaria alternata* (Fries) Keissler ocorre pela infecção dos frutos principalmente através das lenticelas e produz podridões na superfície e pedúnculo dos frutos, causando deterioração do fruto seguida de apodrecimento. (PRUSKY et al., 2003).

### **2.3.3 *Lasiodiplodia theobromae***

*Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Giffon e Maubl. (syn. *Botryodiplodia theobromae* Pat.) pertence à ordem Botryosphaerales e à família Botryosphaeriaceae. É um fungo cosmopolita, polífago e oportunista, portanto com reduzida especialização patogênica, infectando espécies de plantas em regiões tropicais e temperadas, causando os mais variados sintomas (PUNITHALIGAM, 1980; DIAS, 2014).

A coloração das colônias varia do cinza ao preto, com micélio aéreo abundante. Os picnídios podem ser simples ou compostos, muitas vezes agregado, estomático, ostiolado, com até 5 mm de largura. Os conidióforos são cilíndricos hialinos, simples, às vezes septos, raramente ramificados, provenientes das camadas internas das células que alinham a cavidade

do picnídio. Aos conídios são hialinos, simples, cilíndricos, são inicialmente unicelulares, hialinos, granulados, sub-ovóides a elipsoidal-oblongo, de paredes grossas, truncadas de base. Quando maduros os conídios são septados, longitudinalmente estriado, 20-30 x 10-15 µm. As paráfises quando presentes são hialinas, cilíndricas, às vezes dotadas, até 50 µm de comprimento (DIAS, 2014). As características de *L. theobromae* em meio de cultura são muito variáveis e podem apresentar diferenças na coloração das colônias e velocidade de crescimento micelial de acordo com o isolado (HALFELD-VIEIRA et al., 2007).

As podridões pedunculares em mamão, apresentam os sintomas durante o amadurecimento do fruto, fato que parece ocorrer com todos os patógenos associados a essa doença. As lesões surgem após a colheita na região de corte do pedúnculo, tomando a parte basal do fruto, geralmente no início do amadurecimento. Nos sintomas incitados pelo *L. theobromae*, as lesões tornam-se marrom-escuras e deprimidas, sendo circundadas por área aquosa. Esse patógeno apresenta crescimento rápido, causando muitas vezes a mumificação dos frutos (OLIVEIRA; SANTOS FILHO, 2006). Em pós-colheita ocorre frequentemente no pedúnculo e também na superfície da fruta. Na colheita a doença é mais severa sob temperaturas de 25°C a 30°C e em condições de alta umidade relativa (GUPTA; NEMA, 1979).

Em trabalhos realizados por Pereira et al. (2006), os autores notaram que um isolado de coco, mostrou-se altamente patogênico ao mamão, maracujá, manga e caju, enquanto que para coco, foi pouco agressivo. Tal resultado levou os autores a concluir que há variação quanto à patogenicidade de isolados de diferentes hospedeiros e até mesmo entre isolados da mesma cultura.

## **2.4 Óleos essenciais no controle de doenças na pós-colheita**

O Brasil detém uma flora riquíssima, com uma diversidade enorme de espécies utilizadas na medicina popular. Porém, apenas uma pequena parcela desta flora já foi objeto de estudos químicos e farmacológicos que comprovam parcial ou integralmente sua ação medicinal e na agropecuária (EMBRAPA, 2009).

Atualmente o controle de fitopatógenos envolvem o uso de defensivos de origem sintética. Estes, além de apresentarem um elevado custo, persistem no meio ambiente de maneira deletéria, possuem efeitos residuais, espectro de ação e resistência pelo patógeno, e o seu tempo de uso contínuo e prolongado vem induzindo à seleção de estirpes resistentes aos princípios ativos desses produtos. O que tem levado a restrição quanto ao uso de fungicidas,

devido à fitotoxicidade, e aumentado à procura de métodos alternativos de controle tais como, uso de biofungicidas, extratos vegetais e óleos essenciais. Diversos trabalhos estão apresentando resultados promissores para a utilização destes métodos alternativos no controle de fitopatógenos em diversas culturas (FRANCO; BETTIOL, 2000; AGARWAL et al., 2001; BENATO et al., 2002; CARRÉ et al., 2002; MOREIRA et al., 2002; PAULA et al., 2003). A procura por alimentos livres de resíduos de agrotóxicos só aumenta a cada dia, esse fato ocorre principalmente pela mudança de hábito da população que procura consumir alimentos cada vez mais saudáveis e que afetem o mínimo possível o meio ambiente. Os óleos essenciais surgem assim, como uma alternativa para substituição do uso de fungicidas na pós-colheita.

Óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, com baixo peso molecular, geralmente odoríferas e líquidas, constituídos, na maioria das vezes, por moléculas de natureza terpênic. A composição química dos óleos essenciais depende de fatores ambientais, período de colheita, técnica de extração e de fatores genéticos. (LIMA et al., 2003; SANTOS, 2004; MORANDI; BETTIOL, 2009).

Estudos realizados recentemente concluíram que óleos essenciais obtidos a partir de plantas medicinais, apresentaram a existência de compostos com ação fungitóxica capaz de inibir o crescimento micelial e germinação de esporos de *Fusarium pallidoroseum* e *Fusarium subglutinans*. Sendo possível o emprego dos óleos essenciais estudados no controle alternativo da fusariose e podridão por fusário em infrutescência de abacaxi e frutos de melão, além de apresentar efeitos fungitóxico e fungistático, podendo ser usados no controle dos fungos *C. gloeosporioides*, *L. theobromae*, e *Alternaria* spp. responsáveis por doenças pós-colheita mais comuns em diversas culturas (SOUSA, 2010; SELLAMUTHU; SIVAKUMAR; SOUNDY, 2013; ANDRADE; VIEIRA, 2016).

#### **2.4.1 *Cymbopogon citratus* – Capim-limão**

*Cymbopogon citratus*, Stapf (Capim-limão), pertencente à família Poaceae, é uma erva amplamente utilizada em países tropicais, especialmente no Sudeste Asiático. Originária da Índia. Introduzida no Brasil e era utilizada como planta ornamental, sendo encontrada em todo país. (CASTRO; RAMOS, 2003)

Os compostos identificados em *Cymbopogon citratus* são principalmente terpenos, álcoois, cetonas, aldeídos e ésteres. A planta também contém fitoconstituintes relatados, como flavonóides e compostos fenólicos. Estudos indicam que *C. citratus* possui várias atividades

farmacológicas, propriedades antibacterianas, antifúngicas e anti-inflamatórias. (SHAH et al., 2011).

Estudos realizados recentemente comprovaram o efeito de óleo essencial e do extrato de *C. citratus* na inibição total ou parcial do crescimento micelial de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides*, patógenos de frutos de goiaba; e *Fusarium proliferatum*, patógeno causador do tombamento e podridão do colmo do milho (SOUZA et al. 2007; ROZWALKA et al. 2008).

#### **2.4.2 *Lippia sidoides* (sin.: *L. origanoides*) – Alecrim-pimenta**

*Lippia sidoides* Cham. é uma espécie nativa da região semi-árida, pertencente à família Verbenaceae, vulgarmente conhecida como Alecrim-pimenta. É uma planta aromática, arbustiva, de uso medicinal popular encontrada na região da Caatinga, no Nordeste brasileiro (LORENZI; MATOS, 2002; SANTOS et al., 2016). Apresenta atividade inseticida, bactericida, fungicida, larvicida e acaricida (CARVALHO et al., 2003; BOTELHO et al., 2007; CAVALCANTI et al., 2010; LIMA et al., 2011; LIMA et al., 2013; RATNAWEERA et al., 2015; SOARES et al., 2016).

Gadelha et al. (2003) constataram a eficiência do óleo de *L. sidoides* no controle preventivo e curativo de *Fusarium* sp durante o tratamento pós-colheita do pedúnculo de melão (*Cucumis melo* L.) cv Orange Flessh.

Oliveira et al. (2008) trabalhou com o óleo de *Lippia sidoides* no controle do crescimento micelial de contaminantes na micropropagação de plantas, como os fungos *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp, *Fusarium* sp, e *F. oxysporum*, chegando a controlar próximo de 90% para todos os fungos avaliados e associaram essa ação da inibição aos constituintes majoritários como o timol e o carvacrol.

#### **2.4.3 *Ocimum micranthum* (sin.: *Ocimum. Campechianum* Mill.) - Manjeriço**

A espécie *O. micranthum* (sin. *O. campechianum* Mill.) é conhecida vulgarmente pelos nomes de alfavaca do campo, alfavaca de galinha, alfavaca silvestre, favaquinha e manjeriço (DI STASI et al., 2002; SACCHETTI et al., 2004; MONTELES E PINHEIRO, 2007).

O manjeriço é uma planta nativa de regiões tropicais e subtropicais da América, cultivado para fins medicinais e ornamentais, pertence à família de Lamiaceae. Bastante utilizada como condimento, tempero, aromatizante, mas também é largamente utilizada pela

indústria farmacêutica, de alimentos e de perfumes devido aos seus constituintes majoritários (LORENZI; MATOS, 2002; AMARAL E GUARIM, 2007; JARAMILLO et al., 2014). Também contém compostos biologicamente ativos que são utilizados naturalmente como inseticida, nematicida, bactericida e antifúngica (SILVA et al. 2004).

#### **2.4.4 *Ocimum gratissimum* – Alfavaca-Cravo**

A alfavaca (*Ocimum gratissimum* L., Lamiaceae), é um arbusto lenhoso perene pertence à família Lamiaceae. Comumente utilizada na medicina popular e largamente encontrada em quintais e jardins domésticos. É também conhecida como alfavacão, alfavaca-cravo e manjerição-cheiroso. A planta é nativa da África e Ásia tropical, mas pode ser encontrada em todo o Brasil.

Matasyoh et al. (2007) verificou em seus estudos a bioatividade do óleo essencial de *O. gratissimum* sobre bactérias de elevada patogenicidade, como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus spp*, *Pseudomonas aeruginosae*, *Klebisiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*.

Trabalhos comprovaram a eficácia do óleo essencial de alfavaca-cravo sobre o crescimento e germinação de *F. subglutinans*, *C. gloeosporioides*, *Candida albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e ainda o efeito do óleo e do pó das folhas secas da planta em sementes de trigo naturalmente infectadas com *Bipolaris sorokiniana* (NAKAMURA et al. 2004; RODRIGUES et al. 2006; AQUINO et al. 2012).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Local dos experimentos

Os experimentos foram conduzidos nos Laboratórios de Química de Produtos Naturais e no de Patologia Pós-Colheita, da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, Ceará.

#### 3.2 Obtenção dos isolados

Os isolados utilizados nos ensaios fazem parte da Coleção de Trabalho do Laboratório de Patologia Pós-Colheita e da Coleção de Microrganismos de Interesse da Agroindústria Tropical. Originalmente, estes isolados foram coletados de frutos de mamão que apresentavam sintomas típicos de podridões, foram isolados e cultivados em meio de cultura sintético, Batata-Dextrose-Ágar (BDA), até a identificação e preservação destes nas Coleções.

Foram utilizados 10 isolados de três diferentes gêneros de fitopatógenos para os experimentos, três isolados de *Alternaria alternata*, cinco isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* e dois isolados de *Lasiodiplodia theobromae* (tabela 1).

Tabela 1 – Identificação dos isolados fúngicos utilizados no estudo.

<b>Código Coleção</b>	<b>Gênero</b>
<b>LPPC 09</b>	<i>Alternaria alternata</i>
<b>LPPC 64</b>	<i>Alternaria alternata</i>
<b>LPPC 70</b>	<i>Alternaria alternata</i>
<b>LPPC 57</b>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
<b>LPPC 43</b>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
<b>LPPC 10</b>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
<b>LPPC 84</b>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
<b>LPPC 50</b>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
<b>LPPC 05</b>	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>
<b>LPPC 83</b>	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>

Fonte: Amorim, 2017.

Os isolados foram preservados sob duas formas, segundo o método de Castellani, modificado por Figueiredo (1967), para fungos fitopatogênicos, sob temperatura de 10°C, e em sílica-gel, que consiste em espalhar uma suspensão de esporos do fitopatógeno sob a sílica-gel e em seguida armazená-la a temperatura de 10°C.

Para a reativação dos isolados da Coleção de Trabalho, foram utilizadas placas de Petri contendo meio de cultura BDA. Após a reativação e obtenção da colônia pura, discos de 8 mm foram retirados da borda da cultura pura e transferidos para o centro de novas placas de Petri contendo o mesmo meio de cultura e incubados em temperatura média de 25°C, em câmara tipo BOD, com fotoperíodo de 12 horas por, 10 dias.

### 3.3 Extração dos óleos essenciais

As extrações dos óleos essenciais foram realizadas pelo Laboratório de Química de Produtos Naturais e as plantas utilizadas foram cultivadas no Horto de Plantas Medicinais e Aromáticas da Embrapa Agroindústria Tropical (HPMA-CNPAT), Fortaleza, Ceará.

As espécies utilizadas para a obtenção dos óleos essenciais foram as seguintes: Alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*), Manjerição (*Ocimum micranthum*) Capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*).

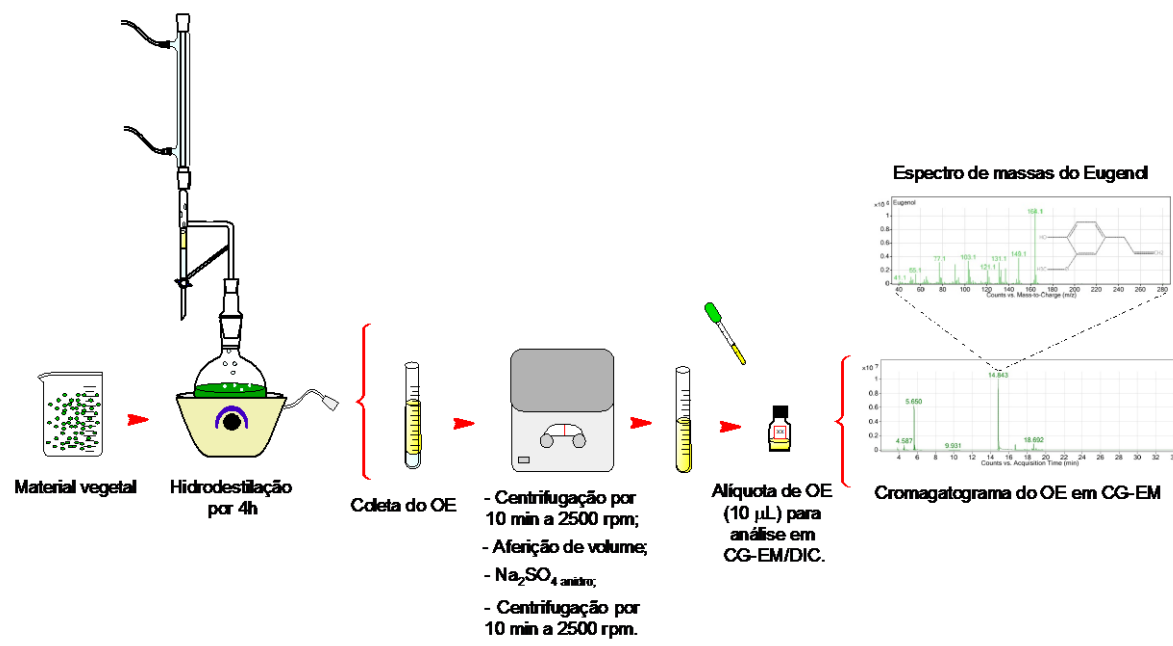
Porções de folhas frescas, foram direcionadas ao beneficiamento, que consistiu na seleção e lavagem do material bem como a retirada das impurezas e do material injuriado. As folhas foram cortadas e submetidas ao processo de extração por hidrodestilação em sistema tipo *Clevenger*. Após quatro horas de extração, os óleos foram centrifugados, aferidos os volumes, separados do hidrolato, e tratados com sulfato de sódio anidro, em seguida, acondicionado em frasco âmbar e armazenado sob refrigeração para posterior análise cromatográfica (Figura 1). Os valores em massa utilizados para cada espécie estão na tabela 2.

Tabela 2 – Massas de folhas frescas das espécies vegetais, utilizadas para a obtenção dos óleos essenciais.

<b>Espécie Vegetal</b>	<b>Massa (g)</b>
<i>Cymbopogon citratus</i>	342,5
<i>Lippia sidoides</i>	406,3
<i>Ocimum gratissimum</i>	200,0
<i>Ocimum micranthum</i>	190,0

Fonte: Amorim, 2017.

Figura 1 – Ilustração resumida do processo de hidrodestilação e análise de óleo essencial (OE) em CG-EM.



Fonte: ACD/ ChemSketch (Freeware)

Para a determinação da umidade (massa de água presente em 100 g de biomassa), foram utilizados separadamente 5 g do material vegetal de cada planta, emergidos em 50 mL de ciclohexano p.a., inseridos em balão de fundo chato com capacidade de 250 mL, acoplado a um aparelho *dean stark* e condensador. O tempo de aquecimento por meio de manta aquecedora foi de 3 h, logo após quantificou-se o volume de água presente no material vegetal (PIMENTEL et al., 2008; SEIXAS et al., 2012, adaptado).

### 3.4 Caracterização química dos óleos essenciais

Os óleos essenciais foram analisados por Cromatografias a Gás acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) e Detecção por Ionização em Chama (DIC), ambas realizadas no Laboratório de Produtos Naturais da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, Ceará.

#### 3.4.1 Análise por cromatografia gasosa-espectrometria de massas (CG-EM)

A identificação dos componentes químicos dos óleos foi realizada por meio de análises por cromatografia gasosa de alta resolução acoplada a espectrômetro de massas (CG-



EM), com cálculo dos índices de retenção e pela análise dos espectros de massas obtidos comparados com as bibliotecas disponíveis (NIST 2.0, 2014).

As análises por CG-EM foram realizadas em um equipamento Agilent, modelo GC-7890B /MSD-5977A (quadropolo), com impacto de elétrons a 70 eV, equipado com coluna HP-5MS metilpolissiloxano (dimensões de 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm, Agilent), gás carreador hélio com fluxo 1,00 mL.min<sup>-1</sup> (8,8 psi) e velocidade linear constante de 36,8 cm.s<sup>-1</sup>, temperatura do injetor 250 °C, temperatura do detector 150 °C, temperatura da linha de transferência 280 °C. A programação do forno cromatográfico com temperatura inicial de 70 °C, com rampa de aquecimento de 4 °C.min<sup>-1</sup> até 180 °C e acréscimo de 10 °C/min até 250 °C com tempo de análise de 34,5 minutos (NIST 2.0, 2014).

Os componentes separados e identificados em cada coluna tiveram os seus tempos de retenção convertidos em seus respectivos Índices de Retenção de Kóvats (IR), com o auxílio de uma série homóloga de alcanos C<sub>7</sub>-C<sub>30</sub>, solubilizada em hexano, injetada nas mesmas condições das amostras e empregando-se a equação abaixo que relaciona os tempos de retenção dos componentes de interesse com os tempos de retenção dos n-alcanos eluídos antes e após.

$$I = \frac{100z + 100(\log t'RX - \log t'RZ)}{(\log t'R(Z+1) - \log t'RZ)}$$

Onde:

t'R – Tempo de retenção ajustado;

X – Tempo de retenção do componente de interesse;

Z – Tempo de retenção do n-alcano eluído imediatamente antes dele;

(Z+1) – Tempo de retenção do alcano eluído imediatamente após ele.

Equação 1 - Equação para cálculo de valores de Índice de Retenção de Kovats.

Após a conversão dos dados de tempo de retenção em índices de retenção empregando a equação 2, a identificação dos componentes presentes foi confirmada através das análises por CG-EM, onde os espectros de massas obtidos foram comparados aos espectros existentes nas bibliotecas da National Institute of Standards and Technology (NIST, versão 2.0, 2014).

### 3.4.2 Análise por Cromatografia Gasosa-Detector de Ionização em Chama (CG-DIC)

As análises por cromatografia gasosa-Detector de ionização em chama (CG-DIC) foram realizadas em um instrumento Shimadzu modelo CG-2010 Plus, coluna RTX-5 metilpolisiloxano (dimensões de 30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ), modo de injeção com divisão de fluxo 1:30, gás carreador nitrogênio com fluxo 1,00 mL.min<sup>-1</sup> (84,1 kPa), temperatura do injetor 250°C, temperatura do detector de 280°C. A programação do forno cromatográfico foi temperatura inicial de 70°C com rampa de aquecimento de 4°C.min<sup>-1</sup> até 180°C por 27,5 min, seguida por rampa de aquecimento de 10°C.min<sup>-1</sup> até 250°C, ao término da corrida (34,5min). A identificação dos compostos foi realizada através da comparação dos seus índices de retenção com os de compostos conhecidos, obtidos por injeção de uma mistura de padrões contendo uma série homóloga de alcanos C<sub>7</sub>-C<sub>30</sub>, e de dados da literatura. A proporção de cada composto no óleo essencial foi calculada por normalização das áreas dos respectivos picos no cromatograma registrado por DIC (NIST, versão 2.0, 2014).

### 3.5 Atividade antifúngica dos óleos essenciais *in vitro*

A atividade antifúngica dos óleos essenciais de alfavaca-cravo, manjerição, capim-limão e alecrim-pimenta, foi testada *in vitro*, através avaliação da inibição do crescimento micelial do patógeno em meio de cultura BDA incorporado com os óleos essenciais em diferentes concentrações.

O estudo foi realizado em dois ensaios. No primeiro foram testados apenas um isolado de cada gênero, com o objetivo de observar quais as concentrações mais eficientes sobre o crescimento dos patógenos, sendo estes: LPPC 09 (*Alternaria alternata*), LPPC 43 (*Colletotrichum gloeosporioides*), LPPC 05 (*Lasiodiplodia theobromae*). E as concentrações testadas: 0  $\mu\text{L.L}^{-1}$  (controle), 500  $\mu\text{L.L}^{-1}$ , 1000  $\mu\text{L.L}^{-1}$  e 1500  $\mu\text{L.L}^{-1}$ .

No segundo ensaio, todos os isolados de todos os patógenos foram testados e novas concentrações foram definidas e testadas de acordo com resultados do primeiro ensaio. Sendo as concentrações testadas diferentes para cada óleo essencial. Para o óleo essencial de alfavaca-cravo foram testadas as concentrações: 0  $\mu\text{L.L}^{-1}$ , 1500  $\mu\text{L.L}^{-1}$  e 2000  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ; para o óleo essencial de manjerição as concentrações foram: 0  $\mu\text{L.L}^{-1}$ , 250  $\mu\text{L.L}^{-1}$  e 750  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ; para o óleo essencial de capim limão: 0  $\mu\text{L.L}^{-1}$ , 250  $\mu\text{L.L}^{-1}$ , 750  $\mu\text{L.L}^{-1}$  e 2000  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ; e para o óleo essencial de alecrim-pimenta foram testadas as concentrações: 0  $\mu\text{L.L}^{-1}$ , 250  $\mu\text{L.L}^{-1}$  e 750  $\mu\text{L.L}^{-1}$ .

Os óleos essenciais foram misturados ao dispersante Tween 20 na proporção 1:1 e adicionados ao meio de cultura BDA. Logo após o meio de cultura incorporado com o óleo essencial foi distribuído em placas de Petri (90 mm). Para o tratamento controle foram utilizadas placa de Petri, também de 90 mm, contendo apenas meio de cultura BDA solidificado, sem o óleo incorporado.

Após a solidificação do meio, transferiu-se para o centro da placa um disco, de 8 mm de diâmetro, com parte do fungo proveniente de colônia pura cultivada por um período de 10 a 15 dias em meio BDA, com fotoperíodo de 12h e temperatura média de 25°C. Após a transferência dos discos de micélio, as placas foram mantidas em incubadoras tipo BOD, à temperatura média de 25°C, sob fotoperíodo de 12 horas. A avaliação aconteceu quando o tratamento controle apresentou crescimento micelial por toda superfície da placa, ou seja, quando atingiu o diâmetro de 90 mm. As medições foram realizadas com o auxílio de um paquímetro digital, medindo-se o diâmetro da área de crescimento micelial em dois eixos ortogonais.

O ensaio foi conduzido em Delineamento Inteiramente Casualizado – DIC, com 3 (três) repetições por tratamento, onde cada placa correspondeu a uma repetição.

As medidas foram utilizadas para determinação da porcentagem de inibição do crescimento micelial (IC%). Foram utilizadas as médias das duas medidas diametricamente opostas em todos os tratamentos para serem aplicadas à equação (equação 2).

$$IC (\%) = [(D_c - D_t) / D_c] * 100]$$

Onde:

IC – Inibição do crescimento (%)

$D_c$  – Diâmetro da colônia de tratamento controle (mm);

$D_t$  – Diâmetro da colônia nos tratamentos com óleos essenciais (mm);

Equação 2: Equação para cálculo da inibição do crescimento micelial *in vitro*.

Os dados obtidos no ensaio foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, através do programa estatístico Sisvar versão 5.6 (FERREIRA, 2010).

Ao avaliar a porcentagem de inibição do crescimento (IC%) em cada óleo essencial, equações de regressão para cada óleo foram ajustadas e estimadas as doses efetivas medianas ( $ED_{50}$ ), ou seja, a dose necessária para inibir 50% do crescimento do fungo.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Identificação e quantificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais

#### 4.1.1 Óleo essencial de Capim-limão (*Cymbopogon citratus*)

A análise por CG-EM/DIC do óleo essencial de Capim-limão (*Cymbopogon citratus*) revelou a presença de quatorze compostos, correspondendo a 98,76% dos constituintes da mistura (Tabela 3). Os componentes majoritários foram identificados como sendo o citral (84,18%), que é uma mistura dos isômeros neral (35,26%) e geranial (48,92%). Os componentes secundários foram o mirceno (7,26%), geraniol (2,79%) e (E)-Isocitral (1,11%). Esses resultados mostraram-se de acordo com os percentuais encontrados por Bassolé et al. (2011), no qual o teor de neral foi 34,5% e o de geranial foi 48,92%, entre os secundários, o mirceno (11,0%) também apresentou o maior percentual. Almeida (2014) em seus trabalhos também identificou o citral como o metabólito majoritário com 89,57%, composto pelos isômeros neral (36,37%) e geranial (53,20%). Millezzi et al. (2012) encontrou 82,03% de citral. Em estudos recentes, Aquino et al. (2014) encontraram teores de 43,69% de neral e 34,05% de geranial. Embora o acúmulo e a síntese de metabólitos secundários possa ser variável, o que depende de diversos fatores bióticos e abióticos, a composição química do óleo essencial de capim-limão utilizado no presente trabalho apresentou-se similar aos utilizados em outros trabalhos.

Tabela 3 - Composição química do óleo essencial extraído das folhas de Capim-limão (*Cymbopogon citratus*) utilizados no estudo.

Composto	<i>Cymbopogon citratus</i>		
	IK <sup>1</sup>	IK <sup>2</sup>	Área (%) <sup>3</sup>
Mirceno	990	993	7,26
p-Cimeno	1024	1030	0,46
Limoneno	1029	1034	0,68
1,8-Cineol	1031	1038	0,34
β-(E)-Ocimeno	1050	1053	0,07
6,7-Epoximirceno	1092	1097	0,27
Linalol	1096	1102	0,70
trans-Crisantenal	1153	1156	0,27
(E)-Isocitral	1180	1186	1,11
Citronelol	1225	1233	0,30
Neral	1238	1246	35,26
Geraniol	1252	1259	2,79
Geranial	1267	1275	48,92
Acetato de Geranila	1381	1388	0,33
Total			98,76

<sup>1</sup>Índice de Kovats da literatura; <sup>2</sup>Índice de Kovats calculado em CG-EM; <sup>3</sup>Percentual obtido por CG-DIC (coluna RTX-5 metilpolisiloxano). Valores destacados em cinza correspondem aos compostos majoritários. Fonte: Kirley Canuto, 2017.

#### 4.1.2 Óleo essencial de Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*)

No óleo essencial extraído das folhas de Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) foram caracterizados vinte e quatro compostos (99,09%), dos quais o majoritário foi o timol (73,79%) e os secundários foram mirceno (1,30%), p-cimeno (9,07%), E-cariofileno (4,74%), 1,8-cineol (1,04%), γ-terpineno (1,35%), e o óxido de cariofileno (1,35%) (Tabela 4).

Cavalcanti et al. (2010), em estudo com quatro acessos de folhas de *L. sidoides*, coletadas em diferentes estados da região nordeste (Rio Grande do Norte, Ceará e Sergipe), encontraram percentuais de timol variando de 7,25-70,36%, acompanhados por carvacrol variando de 0,30-46,09%. Para o óleo essencial estudado no presente trabalho, o percentual de carvacrol foi de 0,21%, estando de acordo com percentuais relatados para espécimes coletados no Ceará (CAVALCATI et al., 2010; SANTOS et al., 2015). Fontenelle et al. (2007) e Aquino et al. (2014) encontraram teores de timol iguais a 80,8% e 59,65% respectivamente. O que é similar aos teores obtidos neste estudo.

Tabela 4 - Composição química do óleo essencial extraído das folhas de *Lippia sidoides* (Alecrim-pimenta) utilizados no estudo, Fortaleza- CE.

Composto	<i>Lippia sidoides</i>		
	IK <sup>1</sup>	IK <sup>2</sup>	Área (%) <sup>3</sup>
$\alpha$ -Tujeno	930	932	0,65
$\alpha$ -Pinoeno	939	941	0,40
$\beta$ -Pinoeno	979	984	0,19
Mirceno	990	993	1,30
$\delta$ -3-Careno	1011	1016	0,10
$\alpha$ -Terpineno	1017	1022	0,54
p-Cimeno	1024	1030	9,07
Limoneno	1029	1034	0,46
1,8-Cineol	1031	1037	1,04
$\gamma$ -Terpineno	1059	1064	1,35
hidrato de cis-Sabineno	1070	1073	0,19
hidrato de trans-Sabineno	1098	1103	0,19
Ipsdienol	1145	1151	0,93
Terpinen-4-ol	1177	1182	0,61
$\alpha$ -Terpineol	1188	1195	0,12
Timol, metil éter	1232	1239	0,85
Timol	1290	1296	73,79
Carvacrol	1299	-	0,21
Acetato de Timol	1352	1359	0,08
E-Cariofileno	1419	1423	4,74
Aromadendreno	1441	1443	0,47
$\alpha$ -Humuleno	1454	1458	0,24
Espatuleno	1578	1581	0,23
Oxido de cariofileno	1583	1586	1,35
Total			99,09

<sup>1</sup>Índice de Kovats da literatura; <sup>2</sup>Índice de Kovats calculado em CG-EM; <sup>3</sup>Percentual obtido por CG-DIC (coluna RTX-5 metilpolissiloxano). Valores destacados em cinza correspondem aos compostos majoritários. Fonte: Kirley Canuto.

#### 4.1.3 Óleo essencial de Manjeriço (*Ocimum micranthum*)

No óleo essencial de *Ocimum micranthum*, foram identificados vinte constituintes, representando 99,41% da composição química. O constituinte majoritário foi o eugenol (72,46%), seguido pelos secundários E-cariofileno (6,94),  $\beta$ -alascueno (5,20%),  $\beta$ -elemeno (3,27%), elemicina (2,90%), metil-eugenol (1,79%),  $\alpha$ -humuleno (1,33%),  $\alpha$ -selineno (1,08%) (Tabela 5).

Estudos recentes de Figueiredo et al. (2014) identificaram como principal componente majoritário o metil-eugenol (83,33%) e como secundários  $\beta$ -selineno (5,11%),  $\alpha$ -

selineno (3,76%),  $\beta$ -cariofileno (2,44%),  $\alpha$ -humuleno (1,15%). Já em estudos realizados por Pereira & Moreira (2011) *O. micranthum* revelou alto teor de 1,8-cineol (62%) e  $\beta$ -cariofileno (78,7%), em comparação ao resultado encontrado em análises dos estudos de Moura (2015) onde apresentou apenas 3,33% de 1,8-cineol e como componente majoritário o metil eugenol (81,03%). Das substâncias encontradas por Pinheiro et al. (2013), destacou-se uma como majoritária o eugenol, com porcentagem de área de 82,98%. As composições apresentadas nesses resultados são semelhantes aos relatos na literatura (SILVA et al. 2003), apesar das diferenças quantitativas dos componentes.

Silva et al. (2004), pesquisaram a influência do horário de coleta na composição química volátil de *O. micranthum* e encontraram um leve decréscimo no percentual de eugenol, variando de 97% às 6:00 horas da manhã para 84% às 18:00 horas, o poderia explicar em parte as diferenças encontradas neste estudo e comparadas com os demais autores.

#### **4.1.3 Óleo essencial de Alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*)**

Para o óleo essencial das folhas de alfavaca-cravo foram identificados treze constituintes químicos, os quais representam 99,40% do óleo essencial. O eugenol (68,96%) destaca-se como o componente majoritário, seguido pelos secundários  $\beta$ -pineno (1,64%), 1,8-cineol (18,96%), E-cariofileno (2,52%),  $\beta$ -Selineno (2,91%) e  $\alpha$ -Selineno (1,01%) (tabela 5).

Franco et al. (2007) descrevem para o óleo de *O. gratissimum* o predomínio do composto Eugenol, contudo, com percentual inferior ao obtido no presente trabalho (57,82%). Em estudos recentes Miranda et al. (2014) caracterizaram óleo essencial de *ocimum gratissimum*, onde apresentou o eugenol como componente majoritário (77,97%), além de (Z)- $\beta$ -ocimeno (7,99%) e  $\gamma$ -muuruleno (6,03%) como componentes secundários. Aquino et al. (2014) caracterizaram o óleo essencial de *O. gratissimum*, e obtiveram o eugenol como o constituinte químico majoritário (92,89%) seguido pelo beta-bisaboleno (5,92%).

Variações observadas nos diversos resultados de trabalhos podem ser em função da sazonalidade, fatores edafoclimáticos, e aspectos genéticos da planta (VAN VUUREN, 2008). O percentual de eugenol no óleo essencial de *O. gratissimum* varia consideravelmente ao longo do dia, no qual o maior teor (98%) é observado às 12:00 do dia e o menor teor (11%) às 17:00 horas (SILVA et al., 1999; MATOS, 2000). Diversos fatores podem estar ligados as variações da composição química e dos teores dos componentes no óleo essencial de *O. gratissimum*, porém os resultados encontrados nas presentes caracterizações estão similares com os encontrados na literatura.

Tabela 5 - Composição química do óleo essencial extraído das folhas de *Ocimum gratissimum* (Alfavaca-cravo) e *Ocimum micranthum* (Manjericão) utilizados neste estudo.

Composto	IK <sup>1</sup>	<i>O. gratissimum</i>		<i>O. micranthum</i>	
		IK <sup>2</sup>	Área (%) <sup>3</sup>	IK <sup>2</sup>	Área (%) <sup>3</sup>
$\alpha$ -Pinenol	939	941	0,61	-	-
Sabineno	975	979	0,52	-	-
$\beta$ -Pinenol	979	989	1,64	-	-
Mirceno	990	996	0,50	-	-
1,8-Cineol	1031	1037	18,96	1037	0,74
$\beta$ -(Z)-Ocimeno	1037	1041	0,33	-	-
$\gamma$ -Terpineno	1059	1065	0,08	-	-
Linalol	1096	-	-	1103	0,61
Borneol	1169	-	-	1172	0,09
$\gamma$ -Terpineol	1199	1199	0,47	-	-
$\delta$ -Elemeno	1338	-	-	1342	0,41
Eugenol	1359	1363	68,96	1364	72,46
$\beta$ -Elemeno	1390	-	-	1394	3,27
Metil Eugenol	1403	-	-	1407	1,79
E-Cariofileno	1419	1423	2,52	1423	6,94
$\alpha$ -Humuleno	1454	-	-	1458	1,33
Sesquisabineno	1459	-	-	1460	0,31
9-epi-(E)-Cariofileno	1466	-	-	1465	0,04
$\gamma$ -Gurjuneno	1477	1484	0,88	-	-
$\gamma$ -Muuroleno	1479	-	-	1484	0,37
$\beta$ -Selineno	1490	1489	2,91	1489	0,77
$\beta$ -Alasqueno	1498	-	-	1499	5,20
$\alpha$ -Selineno	1498	1497	1,01	1500	1,08
$\beta$ -Bisaboleno	1505	-	-	1511	0,17
Elemicina	1557	-	-	1561	2,90
(E)-Isoelemicin	1570	-	-	1571	0,05
Espatulenol	1578	-	-	1581	0,29
Viridiflorol	1587	-	-	1594	0,59
Total			99,40		99,41

<sup>1</sup>Índice de Kovats da literatura; <sup>2</sup>Índice de Kovats calculado em CG-EM; <sup>3</sup>Percentual obtido por CG-DIC (coluna RTX-5 metilpolisiloxano). Valores destacados em cinza correspondem aos compostos majoritários. Fonte: Kirley Canuto, 2017.



## **4.2 Ensaio 1 - Efeito dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Alternaria alternata* e *Lasiodiplodia theobromae***

Todos os óleos essenciais testados nesse ensaio interferiram no crescimento micelial *in vitro* dos diferentes isolados avaliados, porém cada óleo essencial apresentou uma variação no efeito de cada tratamento aplicado. As Figuras 2,3 e 4 demonstram as variações observadas em cada isolado fúngico no ensaio.

### **4.2.1 Alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*)**

As avaliações realizadas para o óleo essencial de *O. gratissimum* as doses de 500  $\mu\text{L.L}^{-1}$ , 1000  $\mu\text{L.L}^{-1}$  e 1500  $\mu\text{L.L}^{-1}$ , apresentaram percentual de inibição do crescimento do isolado de *C. gloeosporioides* de 6,90%, 14,36% e 17,48% respectivamente. Para o isolado de *A. alternata* nas doses de 1000  $\mu\text{L.L}^{-1}$  e 1500  $\mu\text{L.L}^{-1}$ , apresentaram percentual de inibição de 38,14% e 38,05%, respectivamente, não inibindo o crescimento do fitopatógeno na concentração de 500  $\mu\text{L.L}^{-1}$ . Em *L. theobromae* houve pouco efeito de inibição do crescimento micelial das colônias não diferindo estatisticamente do tratamento controle, mesmo na maior dose aplicada (Tabela 6).

### **4.2.2 Manjerição (*Ocimum micranthum*)**

O óleo essencial de *O. micranthum* foi efetivo a partir da menor dose aplicada (500  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) diferindo do tratamento controle, sendo um resultado bastante satisfatório para os isolados de *C. gloeosporioides* e *A. alternata* testados. O óleo essencial inibiu totalmente o crescimento micelial de *L. theobromae* nas concentrações mais altas (1000  $\mu\text{L.L}^{-1}$  e 1500  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) e inibiu 24,16% do crescimento da colônia na menor concentração aplicada (500  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ), diferindo estatisticamente do tratamento controle e das demais doses aplicadas (Tabela 6).

### **4.2.3 Capim-limão (*Cymbopogon citratus*)**

O óleo essencial de *Cymbopogon citratus* foi bastante efetivo, inibiu na menor concentração aplicada as colônias dos isolados de *C. gloeosporioides* e de *A. alternata*, 40,87% e 54,59%, respectivamente, diferindo estatisticamente do tratamento controle e das demais concentrações que inibiram 100% do crescimento micelial dos isolados (1000  $\mu\text{L.L}^{-1}$  e 1500  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ). Para o isolado de *L. theobromae* a inibição do crescimento total da colônia aconteceu na menor concentração aplicada (Tabela 6).

#### 4.2.4 Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*)

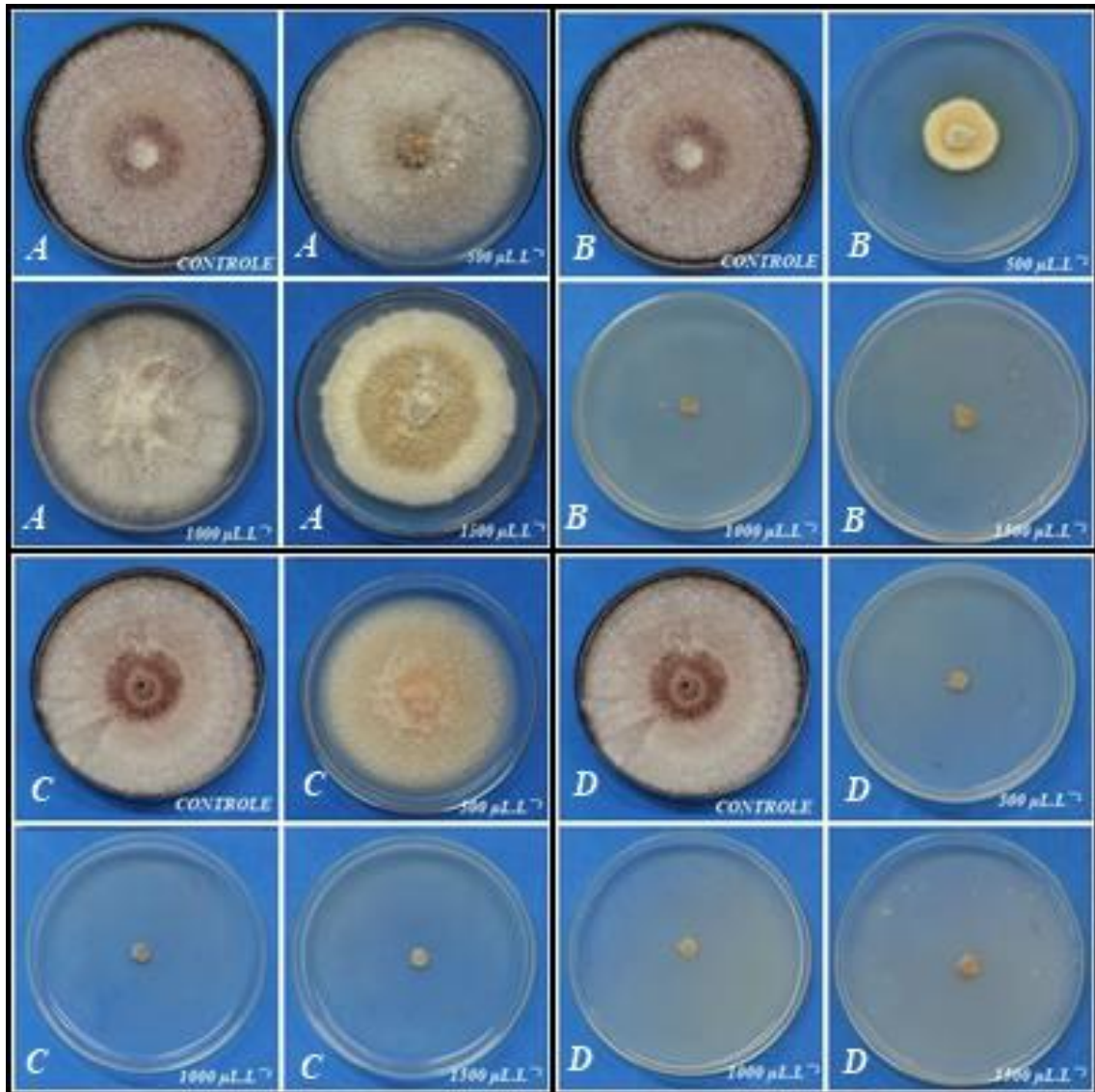
O óleo essencial de *Lippia sidoides* inibiu totalmente o crescimento micelial das colônias de todos os isolados testados a partir da menor concentração (500  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) (Tabela 6).

Tabela 6 - Médias da taxa de inibição do crescimento micelial *in vitro*, dos fitopatógenos testados em óleos essenciais diferentes e suas respectivas doses.

<b><i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (LPPC 43)</b>				
Tratamento	<i>O. gratissimum</i>	<i>O. micranthum</i>	<i>C. citratus</i>	<i>L. sidoides</i>
Controle	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
500 $\mu\text{L.L}^{-1}$	6,90 <sup>a</sup>	74,93 <sup>b</sup>	40,87 <sup>b</sup>	100 <sup>b</sup>
1000 $\mu\text{L.L}^{-1}$	14,36 <sup>a</sup>	100 <sup>b</sup>	100 <sup>c</sup>	100 <sup>b</sup>
1500 $\mu\text{L.L}^{-1}$	17,48 <sup>a</sup>	100 <sup>b</sup>	100 <sup>c</sup>	100 <sup>b</sup>
DESVIO PADRÃO	29,30			
CV%	21,94			
<b><i>Alternaria alternata</i>. (LPPC 09)</b>				
Tratamento	<i>O. gratissimum</i>	<i>O. micranthum</i>	<i>C. citratus</i>	<i>L. sidoides</i>
Controle	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
500 $\mu\text{L.L}^{-1}$	0,00 <sup>a</sup>	100 <sup>b</sup>	54,59 <sup>b</sup>	100 <sup>b</sup>
1000 $\mu\text{L.L}^{-1}$	38,14 <sup>b</sup>	100 <sup>b</sup>	100 <sup>c</sup>	100 <sup>b</sup>
1500 $\mu\text{L.L}^{-1}$	38,05 <sup>b</sup>	100 <sup>b</sup>	100 <sup>c</sup>	100 <sup>b</sup>
DESVIO PADRÃO	20,08			
CV%	17,18			
<b><i>Lasiodiplodia theobromae</i> (LPPC 05)</b>				
Tratamento	<i>O. gratissimum</i>	<i>O. micranthum</i>	<i>C. citratus</i>	<i>L. sidoides</i>
Controle	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
500 $\mu\text{L.L}^{-1}$	3,59 <sup>a</sup>	24,16 <sup>b</sup>	100 <sup>b</sup>	83,27 <sup>b</sup>
1000 $\mu\text{L.L}^{-1}$	6,64 <sup>a</sup>	100 <sup>c</sup>	100 <sup>b</sup>	100 <sup>b</sup>
1500 $\mu\text{L.L}^{-1}$	0,00 <sup>a</sup>	100 <sup>c</sup>	100 <sup>b</sup>	100 <sup>b</sup>
DESVIO PADRÃO	10,15			
CV%	9,85			

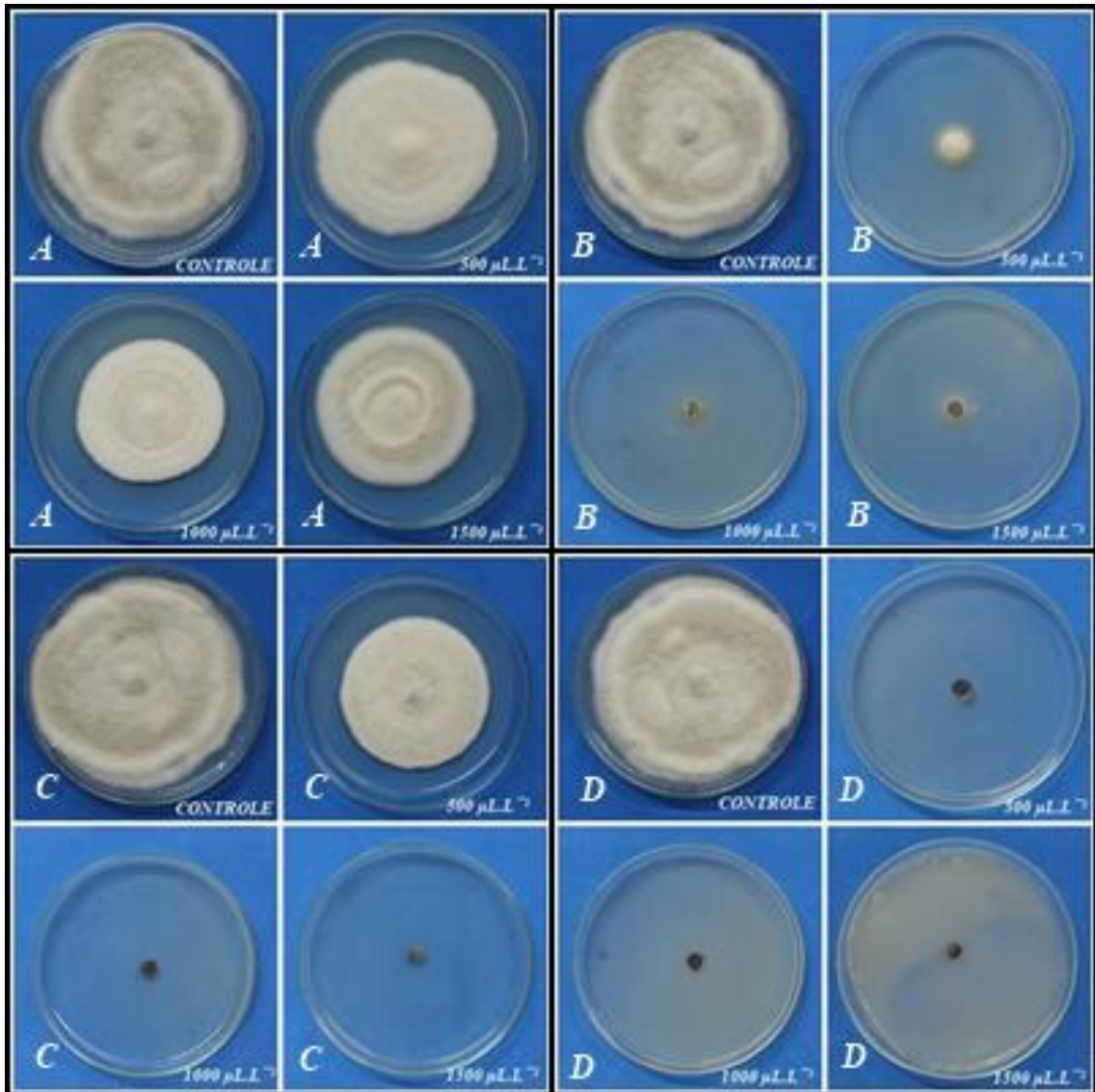
\*Médias seguidas da mesma letra, na coluna, para cada patógeno, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: Amorim, 2017.

Figura 2 – Efeito das diferentes concentrações dos óleos essenciais de Alfavaca-cravo, Manjeriçã, Capim-limã e Alecrim-pimenta sobre o patógeno *Colletotrichum gloeosporioides* (isolado LPPC43), Ensaio 1. A- Alfavaca-cravo; B- Manjeriçã; C- Capim-limã; D- Alecrim-pimenta.



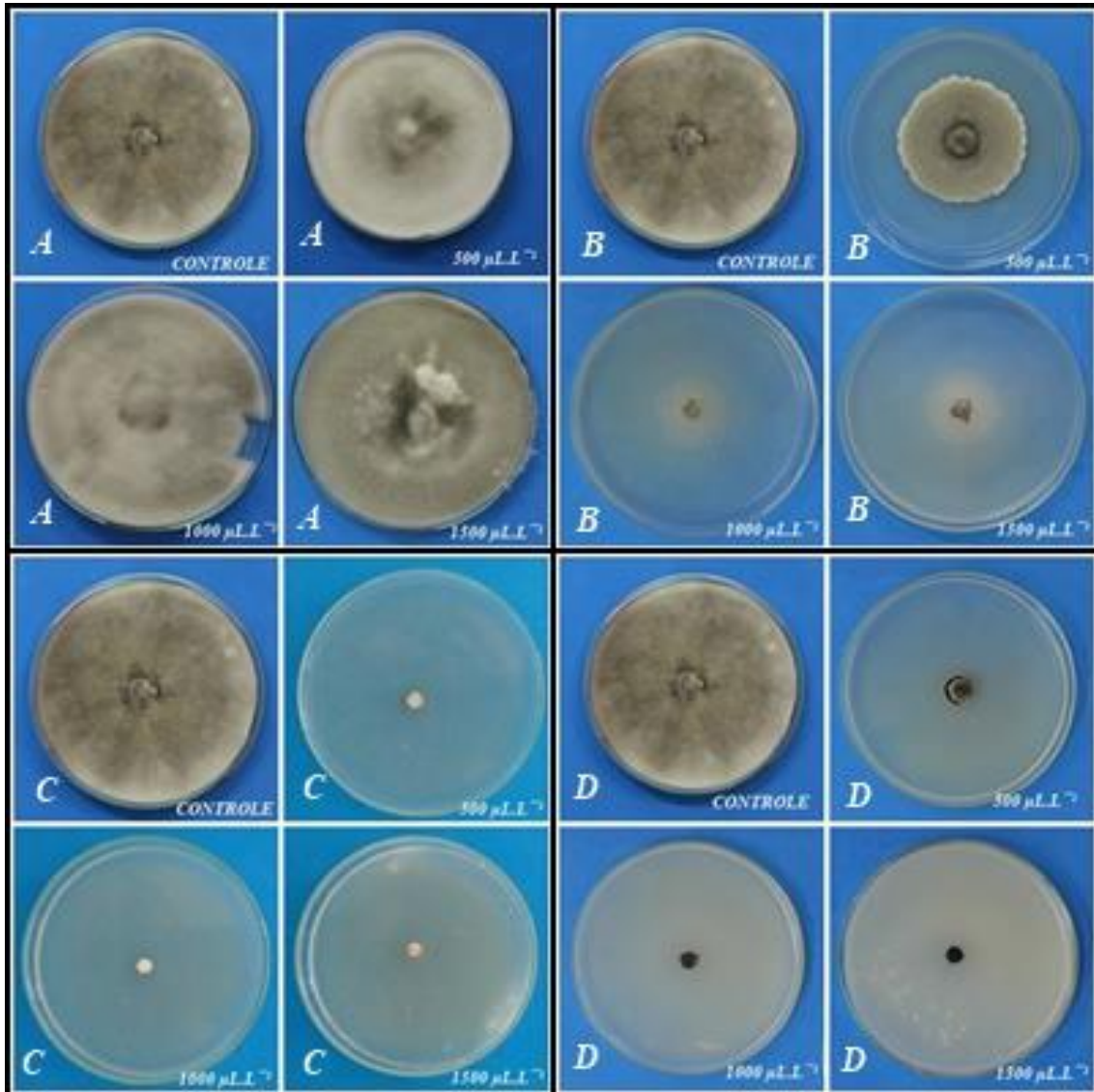
Fonte: Amorim, 2017.

Figura 3 – Efeito das diferentes concentrações dos óleos essenciais de Alfavaca-cravo, Manjerição, Capim-limão e Alecrim-pimenta sobre o patógeno *Alternaria alternata* (isolado LPPC09), Ensaio 1. A- Alfavaca-cravo; B- Manjerição; C- Capim-limão; D- Alecrim-pimenta.



Fonte: Amorim, 2017.

Figura 4 – Efeito das diferentes concentrações dos óleos essenciais de Alfavaca-cravo, Manjeriçã, Capim-limã e Alecrim-pimenta sobre o patógeno *Lasiodiplodia theobromae* (isolado LPPC05), Ensaio 1. A- Alfavaca-cravo; B- Manjeriçã; C- Capim-limã; D- Alecrim-pimenta. Fortaleza, CE. Fonte: Amorim, 2017.



Fonte: Amorim, 2017.

### 4.3 Ensaio 2 - Efeito dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial de isolados de diferentes fitopatógenos

Todos os gêneros submetidos à aplicação dos óleos essenciais testados nesse trabalho, sofreram inibição no crescimento micelial *in vitro* de suas colônias. Porém cada óleo essencial apresentou variações, conforme as doses aplicadas e as diferentes espécies testadas. As figuras 5 a 14 demonstram as variações observadas em cada isolado fúngico no ensaio.

#### 4.3.1 Alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*)

Para todos os isolados testados no ensaio 2 o óleo essencial de alfavaca-cravo foi eficiente inibindo totalmente o crescimento das colônias dos patógenos testados (*C. gloeosporioides*, *A. alternata* e *L. theobromae*) nas concentrações aplicadas ( $1000 \mu\text{L.L}^{-1}$  e  $1500 \mu\text{L.L}^{-1}$ ) (Tabela 7).

Souza Júnior et al (2009) ao analisarem o óleo essencial extraído das plantas *O. gratissimum* concluíram que a espécie vegetal apresentou efeito sobre a germinação dos conídios e crescimento micelial com inibição de 100% do fungo, o que também foi semelhante aos resultados obtidos nos isolados testados neste estudo. Apesar da boa resposta *in vitro*, o óleo não pode ser imediatamente recomendado, estudos devem ser realizados para analisar os níveis de fitotoxidez, e avaliar as possíveis interferências desse óleo sobre os frutos.

#### 4.3.2 Manjeriço (*Ocimum micranthum*)

O óleo essencial de manjeriço respondeu significativamente nos isolados de *C. gloeosporioides*, na menor dose aplicada inibiu o crescimento micelial das colônias entre 14,04 e 45,37% e na maior dose ( $750 \mu\text{L.L}^{-1}$ ) inibiu entre 65,87% e 100% todos os isolados testados, sendo então um resultado bastante significativo. No tratamento da menor dose aplicada ( $250 \mu\text{L.L}^{-1}$ ), variando na inibição do crescimento micelial entre 51,62% e 68,39%, chegando a inibir totalmente o crescimento micelial das colônias na maior dose aplicada para os isolados de *A. alternata* e *L. theobromae* (Tabela 7).

Hussein et al. (2010) descreveram que o óleo essencial de manjeriço, *Ocimum micranthum*, apresentou atividade antifúngica contra *Aspergillus niger*, *Mucor mucedo*, *Fusarium solani*, *Botryodiplodia theobromae*, e *Rhizopus solani*. Assim como apresentou neste estudo atividade fungitóxica contra os isolados testados de *Colletotrichum*, *Alternaria* e *Lasiodiplodia*.



#### 4.3.3 Capim-limão (*Cymbopogon citratus*)

A variação dos efeitos do óleo essencial de capim-limão aconteceu também entre os isolados de *C. gloeosporioides* onde os isolados quando submetidos à dose de menor concentração não diferiram estatisticamente do tratamento controle, exceto para o isolado LPPC50, que diferiu estatisticamente do tratamento controle e da concentração de 2000  $\mu\text{L.L}^{-1}$ , porém não diferiu significativamente da concentração de 750  $\mu\text{L.L}^{-1}$ . Sendo a dose de 750  $\mu\text{L.L}^{-1}$ , mais eficiente para a maioria dos isolados testados (*C. gloeosporioides*, *A. alternata* e *L. theobromae*) de inibindo o crescimento micelial das colônias entre 16,17% e 100% (Tabela 7).

A elevada eficiência do óleo essencial de capim-limão também foi relatada por Santos et al. (2010) ao determinarem a fungitoxicidade *in vitro* do óleo essencial de capim-limão, em concentrações que variaram de 250 a 1250  $\mu\text{L.L}^{-1}$  sobre o fungo *Helminthosporium* sp., intervalo de concentrações semelhantes aos encontrados nos resultados deste estudo, referenciando a diversificação da ação do óleo sobre diferentes patógenos.

Os efeitos do óleo essencial de Capim-limão (*Cymbopogon citratus*) foram testados e comprovados seu potencial de ação sobre o controle *in vivo* e *in vitro* da antracnose na fase pós-colheita do mamão (*Colletotrichum gloeosporioides*), mesmo patógeno testado neste estudo (MARQUES et al 2003; CARNELOSSI et al. 2009).

#### 4.3.4 Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*)

Nos isolados de *C. gloeosporioides* houve variação entre os isolados testados, na menor dose aplicada, 250  $\mu\text{L.L}^{-1}$ , o óleo foi eficiente inibindo entre 31,46% e 83,78% do crescimento micelial das colônias, porém para os isolados LPPC10 e LPPC50 na menor dose o crescimento foi inibido entre 81,08 e 100%, não diferindo estatisticamente da dose mais elevada que inibiu 100% em todas as colônias testadas (Tabela 7).

Nos demais isolados testados a dose de 250  $\mu\text{L.L}^{-1}$  não diferiu significativamente da maior dose aplicada, inibindo entre 88,82% e 100% os isolados de *A. alternata* e inibindo totalmente o crescimento micelial dos isolados de *L. theobromae* (Tabela 7).

Propriedades antimicrobianas de óleos essenciais de outras espécies do gênero *Lippia* são bem conhecidas. Como o óleo essencial de *L. scaberrina* reduziu em até 86% o crescimento micelial de *Botryosphaeria parva* (REGNIER et al., 2008), *Lippia sidoides* contra o crescimento micelial de *L. theobromae* controlou mais eficientemente o patógeno (CRAVEIRO, 1984; MOTA et al. 2002). Obtivemos neste estudo com *L. theobromae*

resultados semelhantes aos autores, sendo este o óleo mais eficaz contra o crescimento micelial do patógeno.

Tabela 7 - Médias do Índice de inibição do crescimento micelial *in vitro*, dos isolados de *C. gloeosporioides*, *A. alternata* e *L. theobromae*, testados em óleos essenciais diferentes e suas respectivas doses.

<b><i>Colletotrichum spp. (LPPC 43)</i></b>				
Tratamento	<i>O. gratissimum</i>	<i>O. micranthum</i>	<i>C. citratus</i>	<i>L. sidoides</i>
Controle	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
250 $\mu\text{L.L}^{-1}$	-	24,42 <sup>b</sup>	2,34 <sup>a</sup>	67,02 <sup>b</sup>
750 $\mu\text{L.L}^{-1}$	-	100 <sup>c</sup>	33,05 <sup>b</sup>	100 <sup>c</sup>
1500 $\mu\text{L.L}^{-1}$	100 <sup>b</sup>	-	-	-
2000 $\mu\text{L.L}^{-1}$	100 <sup>b</sup>	-	100 <sup>c</sup>	-
DESVIO PADRÃO	6,50			
CV%	6,09			
<b><i>Colletotrichum spp. (LPPC 57)</i></b>				
Tratamento	<i>O. gratissimum</i>	<i>O. micranthum</i>	<i>C. citratus</i>	<i>L. sidoides</i>
Controle	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
250 $\mu\text{L.L}^{-1}$	-	24,42 <sup>b</sup>	10,71 <sup>a</sup>	44,36 <sup>b</sup>
750 $\mu\text{L.L}^{-1}$	-	100 <sup>c</sup>	100 <sup>b</sup>	100 <sup>c</sup>
1500 $\mu\text{L.L}^{-1}$	100 <sup>b</sup>	-	-	-
2000 $\mu\text{L.L}^{-1}$	100 <sup>b</sup>	-	100 <sup>b</sup>	-
DESVIO PADRÃO	11,26			
CV%	9,49			
<b><i>Colletotrichum spp. (LPPC 10)</i></b>				
Tratamento	<i>O. gratissimum</i>	<i>O. micranthum</i>	<i>C. citratus</i>	<i>L. sidoides</i>
Controle	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
250 $\mu\text{L.L}^{-1}$	-	45,37 <sup>b</sup>	12,07 <sup>a</sup>	81,08 <sup>b</sup>
750 $\mu\text{L.L}^{-1}$	-	100 <sup>c</sup>	16,17 <sup>a</sup>	100 <sup>b</sup>
1500 $\mu\text{L.L}^{-1}$	100 <sup>b</sup>	-	-	-
2000 $\mu\text{L.L}^{-1}$	100 <sup>b</sup>	-	100 <sup>b</sup>	-
DESVIO PADRÃO	20,59			
CV%	18,47			
<b><i>Colletotrichum spp. (LPPC 84)</i></b>				
Tratamento	<i>O. gratissimum</i>	<i>O. micranthum</i>	<i>C. citratus</i>	<i>L. sidoides</i>
Controle	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
250 $\mu\text{L.L}^{-1}$	-	14,04 <sup>b</sup>	0,97 <sup>a</sup>	31,46 <sup>b</sup>
750 $\mu\text{L.L}^{-1}$	-	65,87 <sup>c</sup>	67,80 <sup>b</sup>	100 <sup>c</sup>
1500 $\mu\text{L.L}^{-1}$	100 <sup>b</sup>	-	-	-
2000 $\mu\text{L.L}^{-1}$	100 <sup>b</sup>	-	100 <sup>c</sup>	-
DESVIO PADRÃO	35,85			
CV%	36,29			

Continua...



Continuação...

<i>Colletotrichum spp. (LPPC 50)</i>				
Tratamento	<i>O. gratissimum</i>	<i>O. micranthum</i>	<i>C. citratus</i>	<i>L. sidoides</i>
Controle	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
250 $\mu\text{L.L}^{-1}$	-	100 <sup>b</sup>	31,34 <sup>b</sup>	83,78 <sup>b</sup>
750 $\mu\text{L.L}^{-1}$	-	100 <sup>b</sup>	39,58 <sup>b</sup>	100 <sup>b</sup>
1500 $\mu\text{L.L}^{-1}$	100 <sup>b</sup>	-	-	-
2000 $\mu\text{L.L}^{-1}$	100 <sup>b</sup>	-	100 <sup>c</sup>	-
DESVIO PADRÃO	30,31			
CV%	23,59			
<i>Alternaria spp. (LPPC 09)</i>				
Tratamento	<i>O. gratissimum</i>	<i>O. micranthum</i>	<i>C. citratus</i>	<i>L. sidoides</i>
Controle	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
250 $\mu\text{L.L}^{-1}$	-	63,08 <sup>b</sup>	12,58 <sup>a</sup>	100 <sup>b</sup>
750 $\mu\text{L.L}^{-1}$	-	100 <sup>c</sup>	100 <sup>b</sup>	100 <sup>b</sup>
1500 $\mu\text{L.L}^{-1}$	100 <sup>b</sup>	-	-	-
2000 $\mu\text{L.L}^{-1}$	100 <sup>b</sup>	-	100 <sup>b</sup>	-
DESVIO PADRÃO	8,89			
CV%	6,92			
<i>Alternaria spp. (LPPC 64)</i>				
Tratamento	<i>O. gratissimum</i>	<i>O. micranthum</i>	<i>C. citratus</i>	<i>L. sidoides</i>
Controle	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
250 $\mu\text{L.L}^{-1}$	-	68,39 <sup>b</sup>	20,09 <sup>a</sup>	88,82 <sup>b</sup>
750 $\mu\text{L.L}^{-1}$	-	100 <sup>c</sup>	100 <sup>b</sup>	100 <sup>b</sup>
1500 $\mu\text{L.L}^{-1}$	100 <sup>b</sup>	-	-	-
2000 $\mu\text{L.L}^{-1}$	100 <sup>b</sup>	-	100 <sup>b</sup>	-
DESVIO PADRÃO	8,65			
CV%	6,54			
<i>Alternaria spp. (LPPC 70)</i>				
Tratamento	<i>O. gratissimum</i>	<i>O. micranthum</i>	<i>C. citratus</i>	<i>L. sidoides</i>
Controle	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
250 $\mu\text{L.L}^{-1}$	-	63,23 <sup>b</sup>	100 <sup>b</sup>	100 <sup>b</sup>
750 $\mu\text{L.L}^{-1}$	-	100 <sup>b</sup>	100 <sup>b</sup>	100 <sup>b</sup>
1500 $\mu\text{L.L}^{-1}$	100 <sup>b</sup>	-	-	-
2000 $\mu\text{L.L}^{-1}$	100 <sup>b</sup>	-	66,66 <sup>b</sup>	-
DESVIO PADRÃO	37,31			
CV%	26,40			
<i>Lasiodiplodia spp. (LPPC 05)</i>				
Tratamento	<i>O. gratissimum</i>	<i>O. micranthum</i>	<i>C. citratus</i>	<i>L. sidoides</i>
Controle	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
250 $\mu\text{L.L}^{-1}$	-	62,65 <sup>b</sup>	38,75 <sup>b</sup>	100 <sup>b</sup>
750 $\mu\text{L.L}^{-1}$	-	100 <sup>c</sup>	66,09 <sup>c</sup>	100 <sup>b</sup>
1500 $\mu\text{L.L}^{-1}$	100 <sup>b</sup>	-	-	-
2000 $\mu\text{L.L}^{-1}$	100 <sup>b</sup>	-	100 <sup>c</sup>	-
DESVIO PADRÃO	17,28			
CV%	13,23			

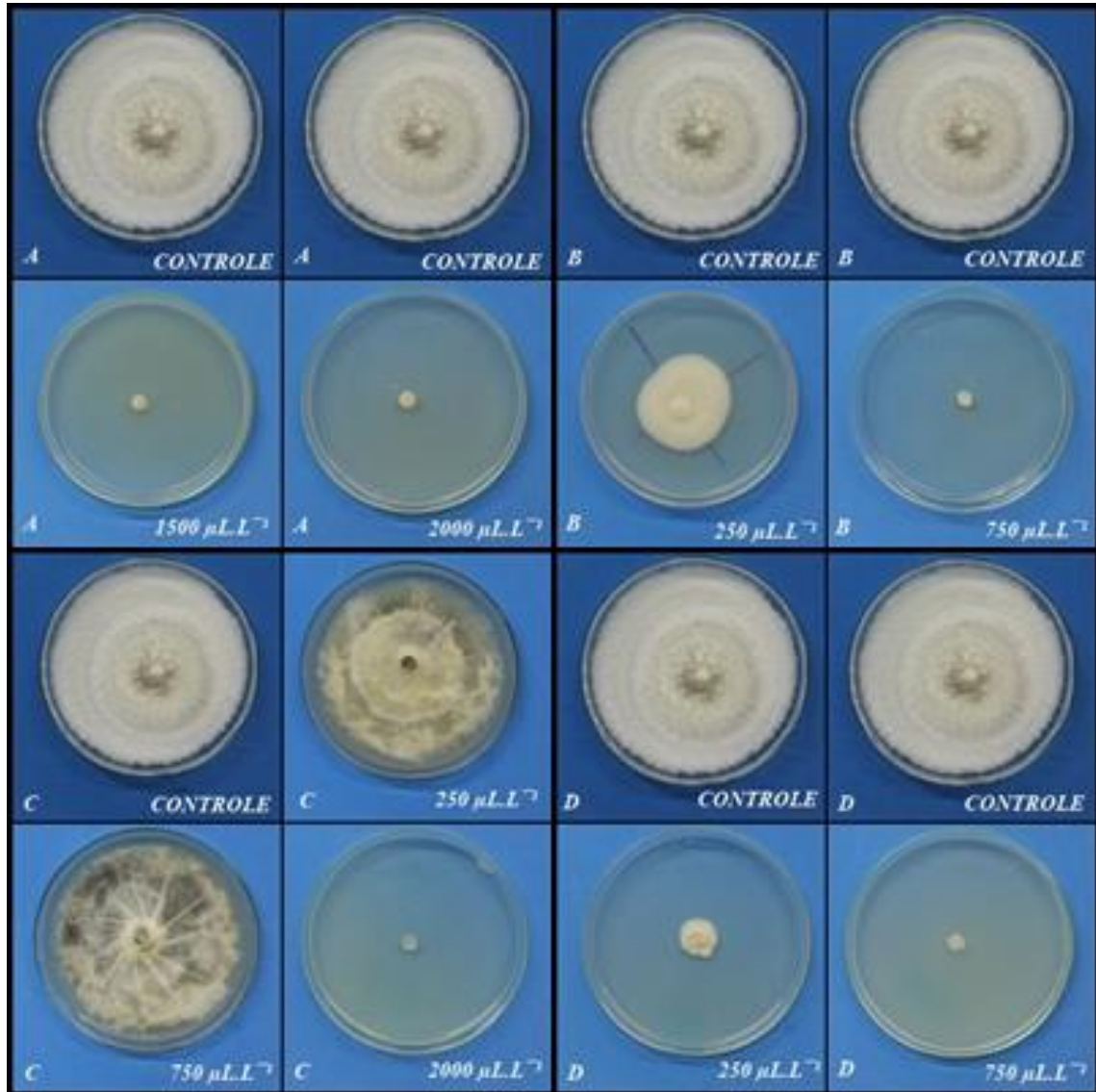
Continua...

Tabela 8 - Médias do Índice de inibição do crescimento micelial *in vitro*, dos isolados de *C. gloeosporioides*, *A. alternata* e *L. theobromae*, testados em óleos essenciais diferentes e suas respectivas doses. **Conclusão...**

<i>Lasiodiplodia spp. (LPPC 83)</i>				
Tratamento	<i>O. gratissimum</i>	<i>O. micranthum</i>	<i>C. citratus</i>	<i>L. sidoides</i>
Controle	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
250 $\mu\text{L.L}^{-1}$	-	51,62 <sup>b</sup>	27,95 <sup>b</sup>	100 <sup>b</sup>
750 $\mu\text{L.L}^{-1}$	-	100 <sup>c</sup>	78,05 <sup>c</sup>	100 <sup>b</sup>
1500 $\mu\text{L.L}^{-1}$	100 <sup>b</sup>	-	-	-
2000 $\mu\text{L.L}^{-1}$	100 <sup>b</sup>	-	100 <sup>c</sup>	-
DESVIO PADRÃO	22,16			
CV%	17,18			

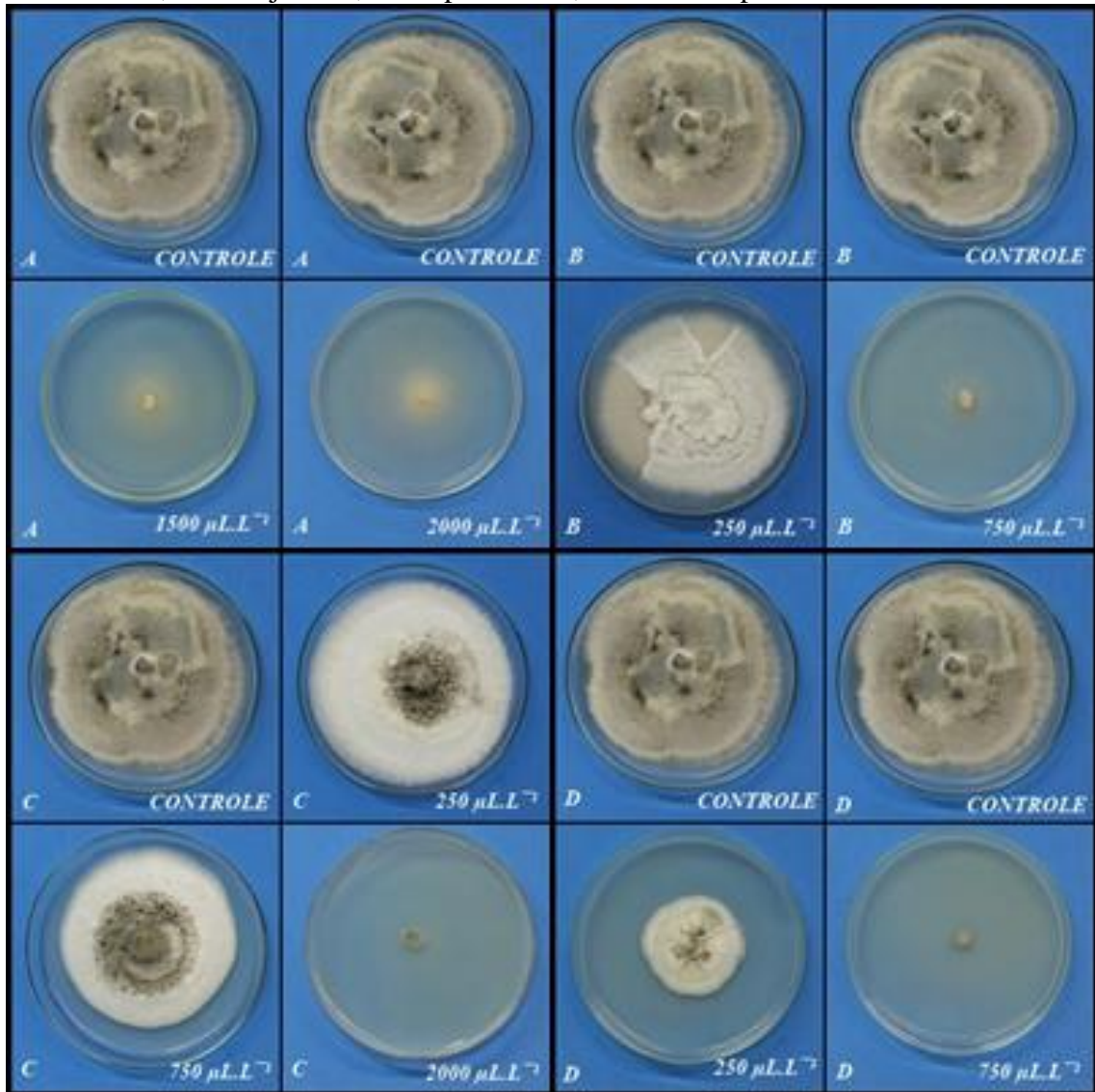
Legenda: (-) Concentrações não testadas no ensaio. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, para cada patógeno, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: Amorim, 2017.

Figura 5 – Efeito das diferentes concentrações dos óleos essenciais de Alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*), Manjeriçãõ (*Ocimum micranthum*), Capim-limãõ (*Cymbopogon citratus*) e Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) sobre o isolado LPPC 10 (*Colletotrichum*). A- Alfavaca-cravo; B- Manjeriçãõ; C- Capim-limãõ; D- Alecrim-pimenta.



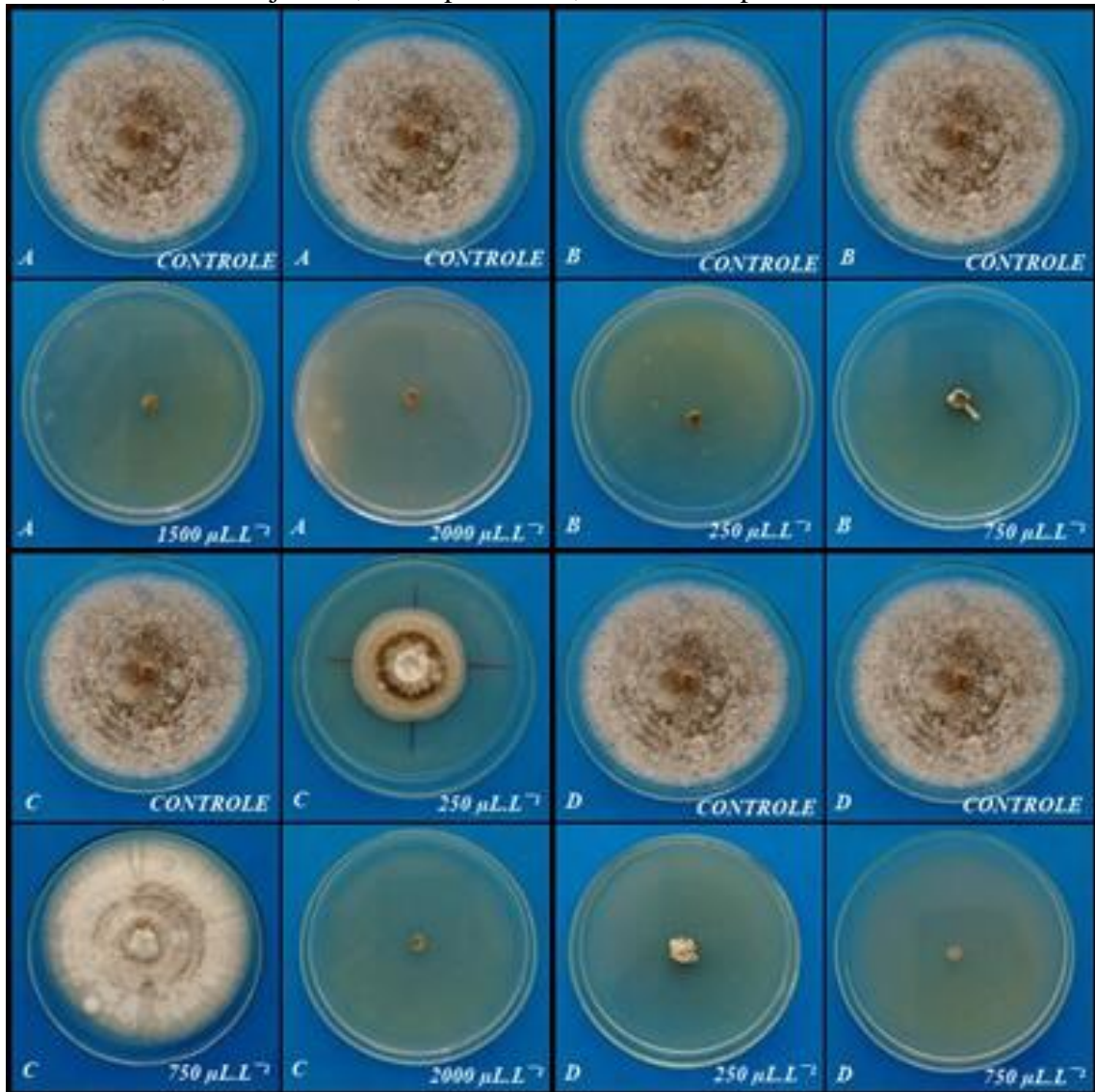
Fonte: Amorim, 2017.

Figura 6 – Efeito das diferentes concentrações dos óleos essenciais de Alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*), Manjeriçãõ (*Ocimum micranthum*), Capim-limãõ (*Cymbopogon citratus*) e Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) sobre o isolado LPPC 43 (*Colletotrichum*). A- Alfavaca-cravo; B- Manjeriçãõ; C- Capim-limãõ; D- Alecrim-pimenta.



Fonte: Amorim, 2017.

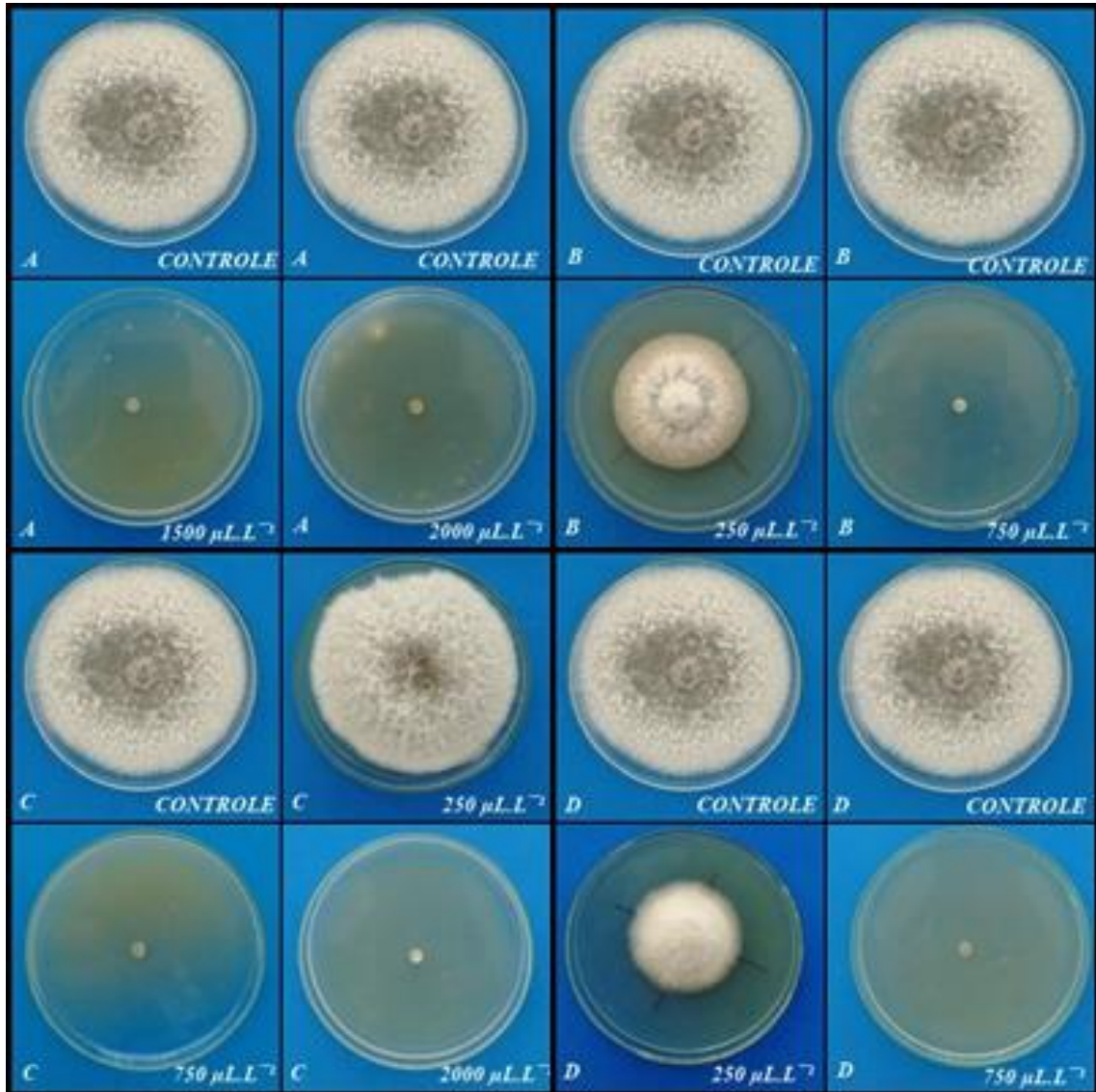
Figura 7 – Efeito das diferentes concentrações dos óleos essenciais de Alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*), Manjeriçãõ (*Ocimum micranthum*), Capim-limãõ (*Cymbopogon citratus*) e Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) sobre o isolado LPPC 50 (*Colletotrichum*). A- Alfavaca-cravo; B- Manjeriçãõ; C- Capim-limãõ; D- Alecrim-pimenta.



Fonte: Amorim, 2017.

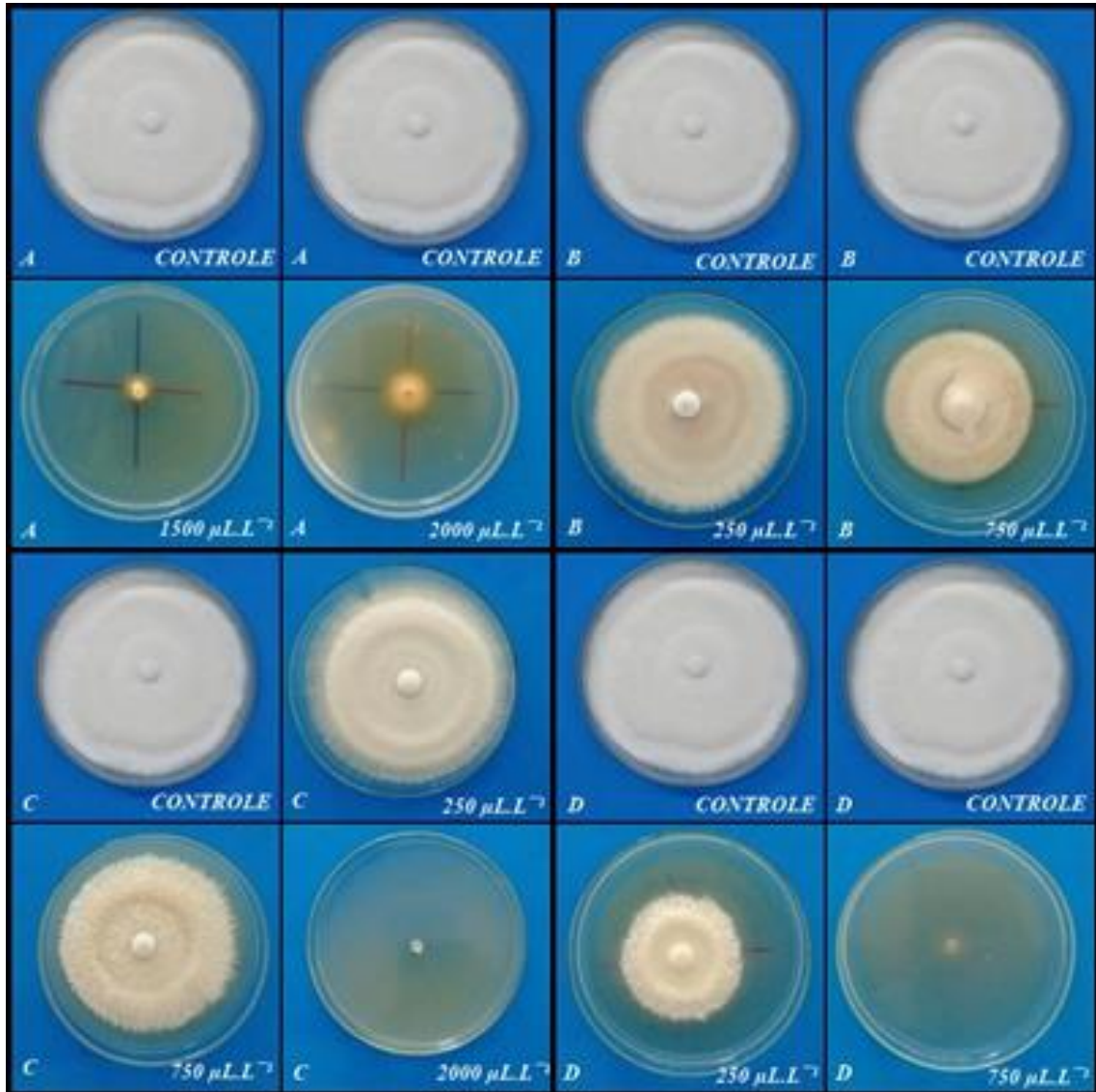


Figura 8 – Efeito das diferentes concentrações dos óleos essenciais de Alfavaca-cravo, Manjerição, Capim-limão e Alecrim-pimenta sobre o isolado LPPC 57 (*Colletotrichum*). A- Alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*); B- Manjerição (*Ocimum micranthum*); C- Capim-limão (*Cymbopogon citratus*); D- Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*).



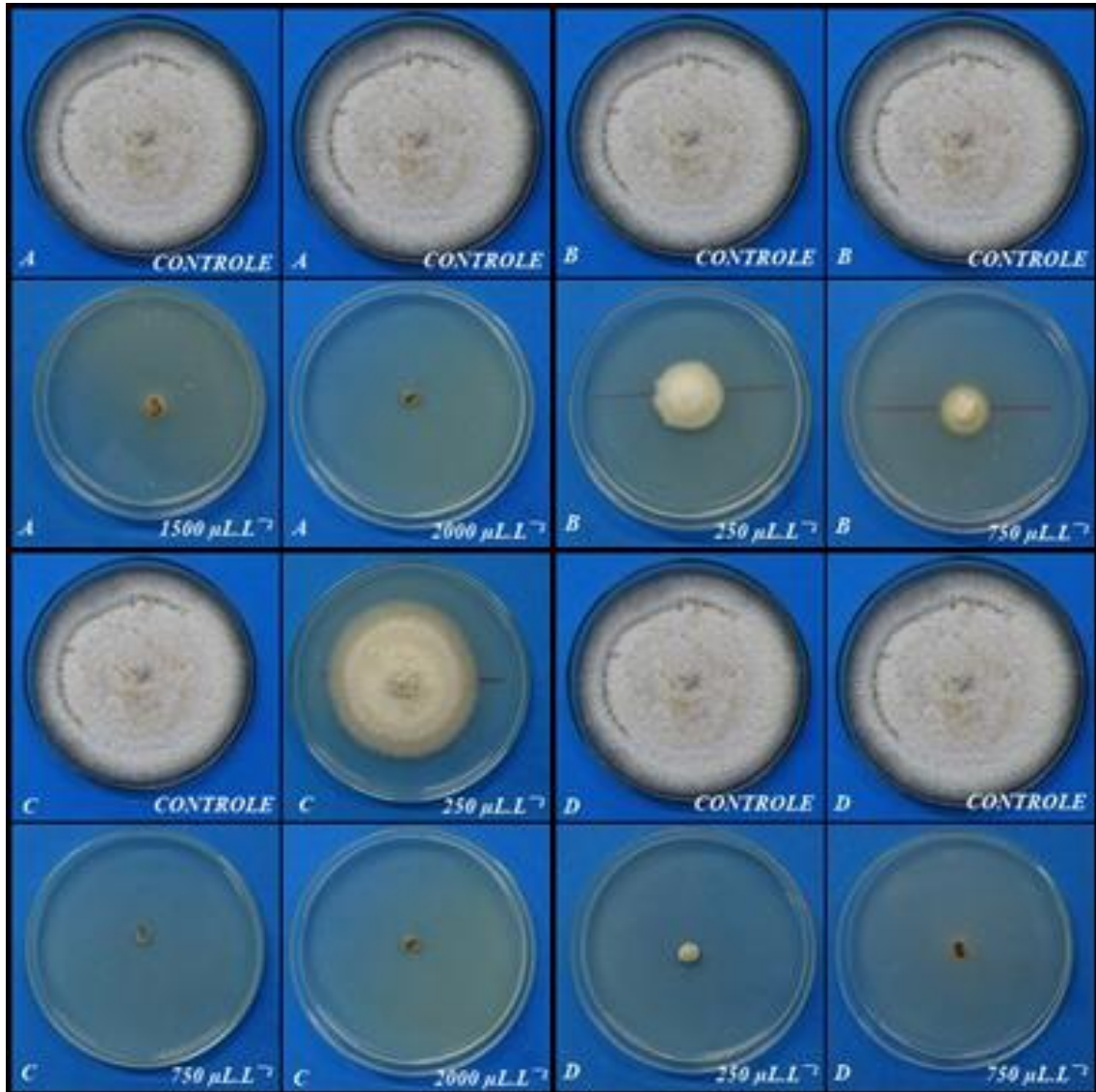
Fonte: Amorim, 2017.

Figura 9 – Efeito das diferentes concentrações dos óleos essenciais de Alfavaca-cravo, Manjeriçã, Capim-limão e Alecrim-pimenta sobre o isolado LPPC 84 (*Colletotrichum*). A- Alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*); B- Manjeriçã (*Ocimum micranthum*); C- Capim-limão (*Cymbopogon citratus*); D- Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*).



Fonte: Amorim, 2017.

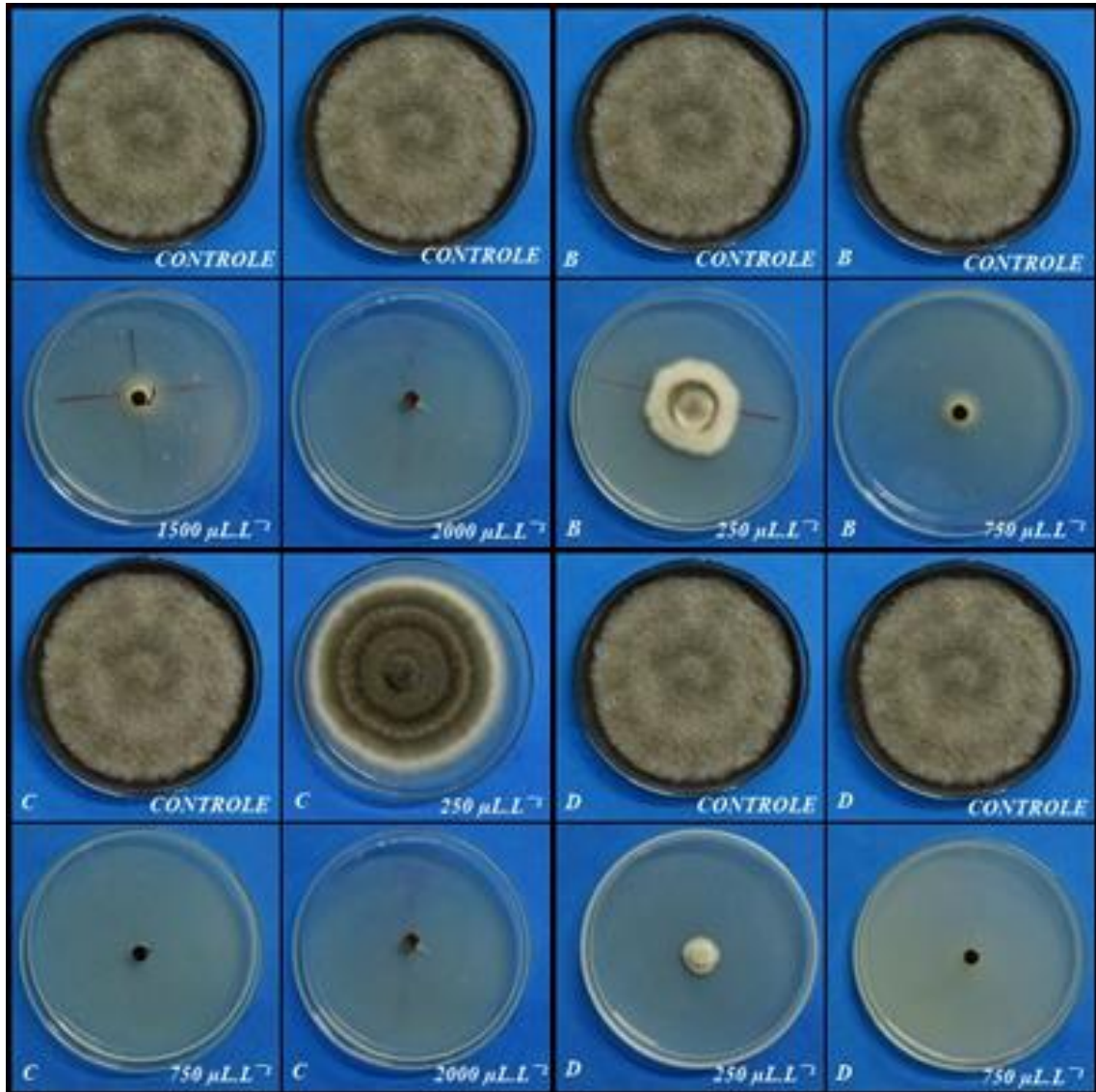
Figura 10 – Efeito das diferentes concentrações dos óleos essenciais de Alfavaca-cravo, Manjerição, Capim-limão e Alecrim-pimenta sobre o isolado LPPC 09 (*Alternaria*). A- Alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*); B- Manjerição (*Ocimum micranthum*); C- Capim-limão (*Cymbopogon citratus*); D- Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*).



Fonte: Amorim, 2017.

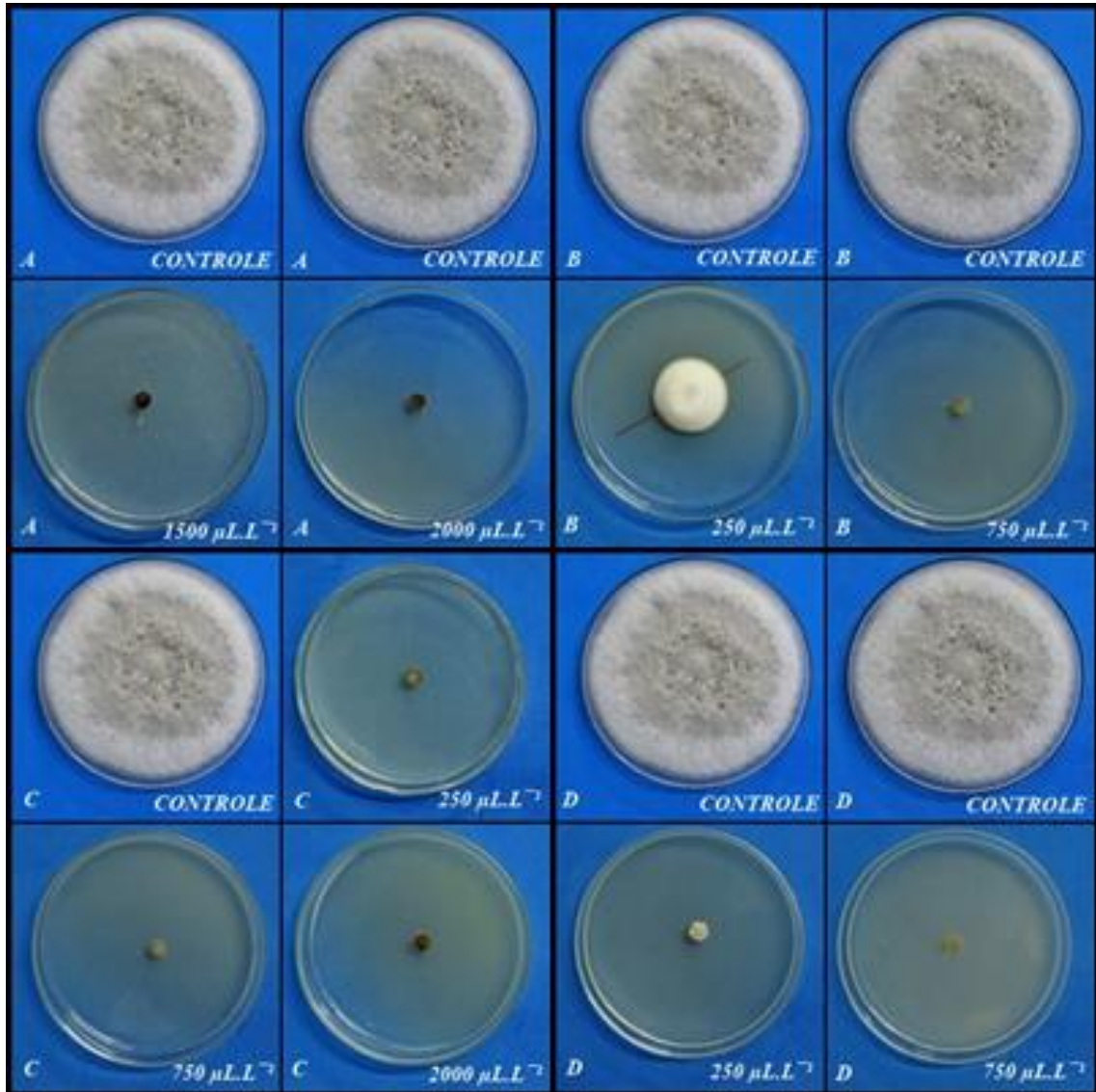


Figura 11 – Efeito das diferentes concentrações dos óleos essenciais de Alfavaca-cravo, Manjerição, Capim-limão e Alecrim-pimenta sobre o isolado LPPC 64 (*Alternaria*). A- Alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*); B- Manjerição (*Ocimum micranthum*); C- Capim-limão (*Cymbopogon citratus*); D- Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*).



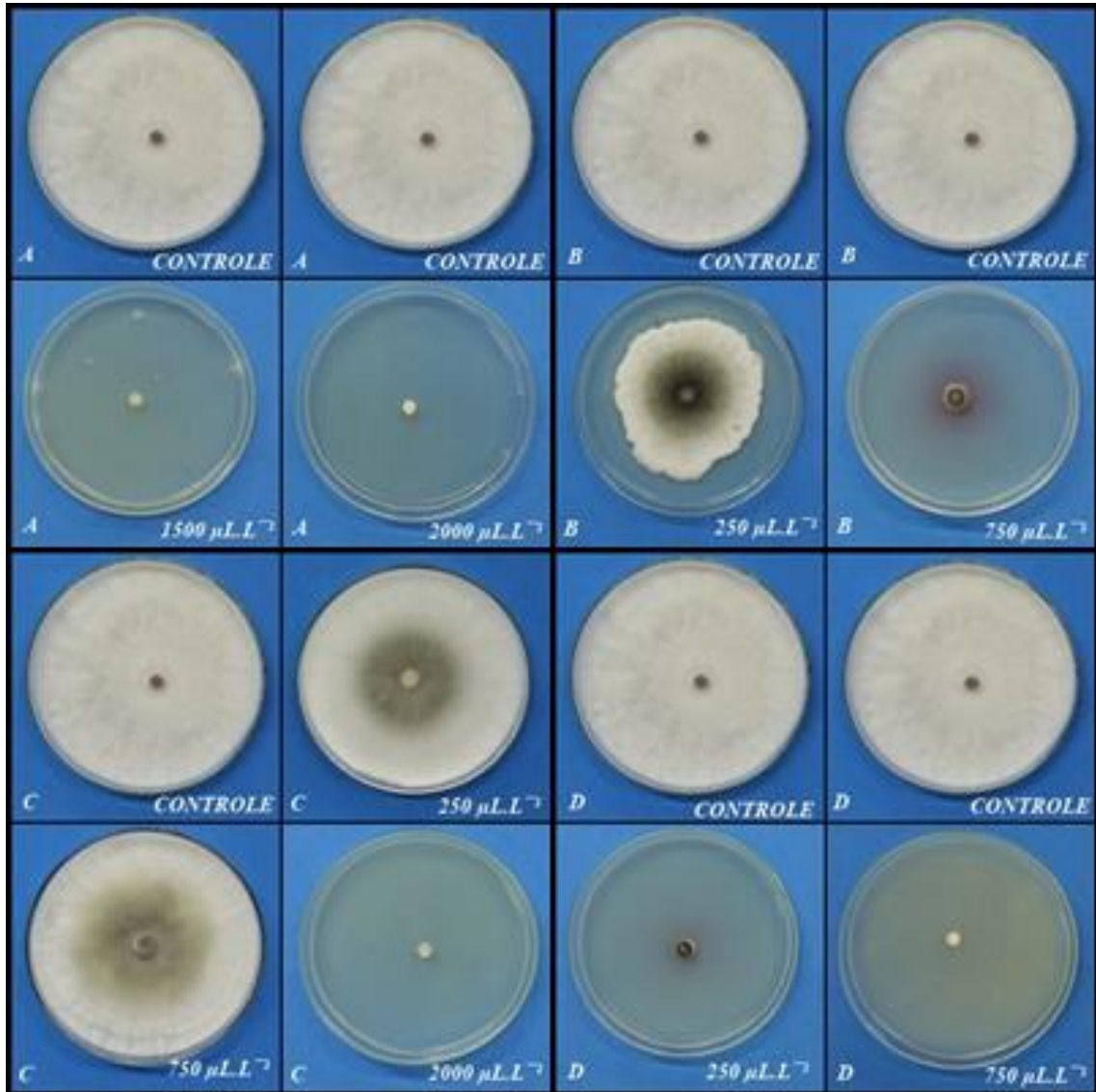
Fonte: Amorim, 2017.

Figura 12 – Efeito das diferentes concentrações dos óleos essenciais de Alfavaca-cravo, Manjeriçã, Capim-limão e Alecrim-pimenta sobre o isolado LPPC 70 (*Alternaria*). A- Alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*); B- Manjeriçã (*Ocimum micranthum*); C- Capim-limão (*Cymbopogon citratus*); D- Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*).



Fonte: Amorim, 2017.

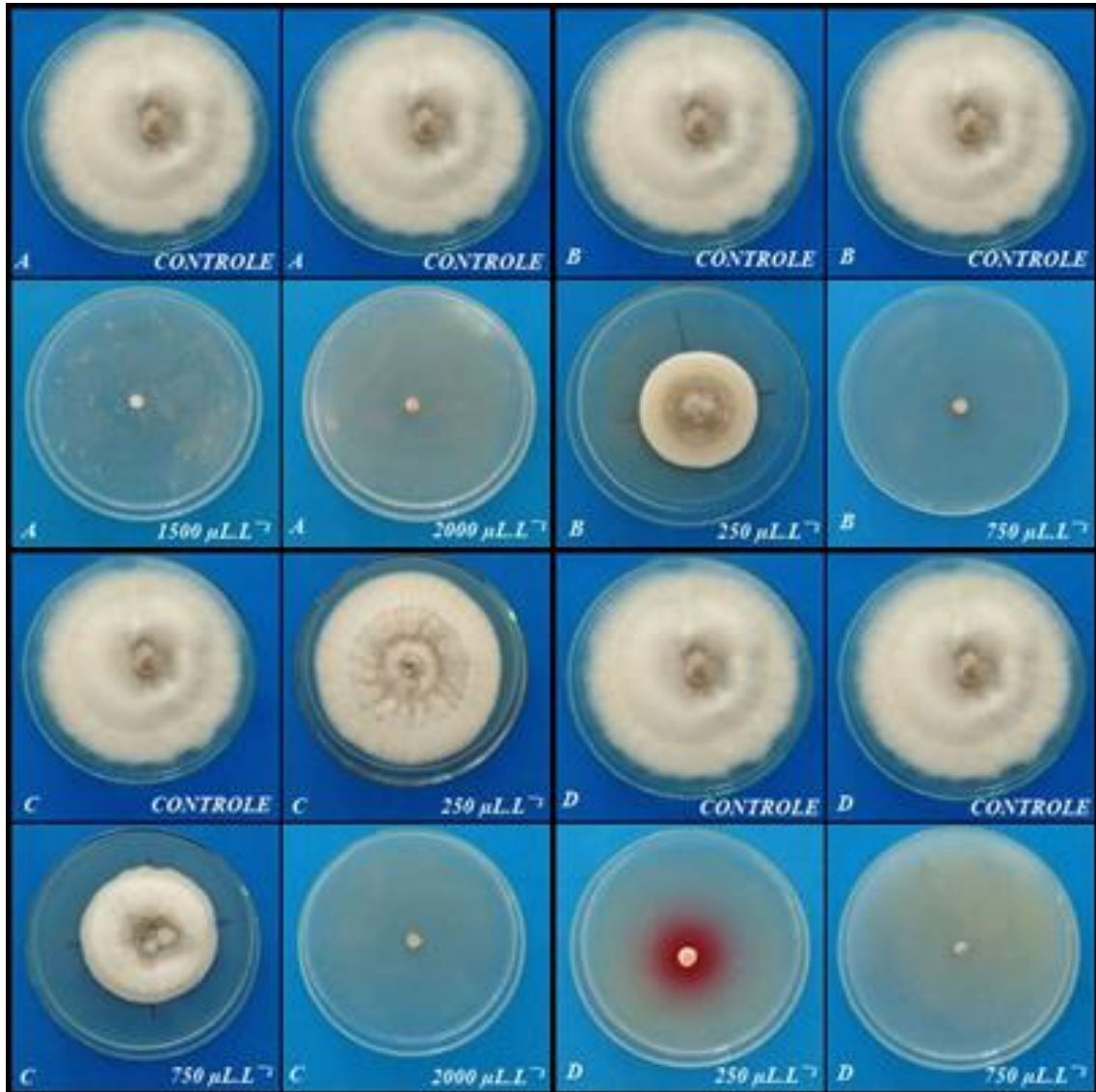
Figura 13 – Efeito das diferentes concentrações dos óleos essenciais de Alfavaca-cravo, Manjeriçã, Capim-limão e Alecrim-pimenta sobre o isolado LPPC 05 (*Lasiodiplodia*). A- Alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*); B- Manjeriçã (*Ocimum micranthum*); C- Capim-limão (*Cymbopogon citratus*); D- Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*).



Fonte: Amorim, 2017.



Figura 14 – Efeito das diferentes concentrações dos óleos essenciais de Alfavaca-cravo, Manjerição, Capim-limão e Alecrim-pimenta sobre o isolado LPPC 83 (*Lasiodiplotia*). A- Alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*); B- Manjerição (*Ocimum micranthum*); C- Capim-limão (*Cymbopogon citratus*); D- Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*).



Fonte: Amorim, 2017.

Os compostos minoritários são em parte responsáveis pela definição de aroma, densidade, textura, cor dos óleos, mas, também por características importantes no controle de microrganismos, como penetração na célula, atração lipofílica e hidrofílica, fixação na parede e membrana celulares e distribuição dos compostos com ação fungicida ou fungistática na célula fúngica (BAKKALI et al., 2008). O que se explicaria, em parte, os resultados dos estudos realizados neste trabalho, com a observação de ações fungicidas e fungistáticas com o uso dos óleos essenciais.

#### 4.4 Valores de ED<sub>50</sub>

##### 4.4.1 Alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*)

Para o óleo essencial de alfavaca-cravo a dose efetiva mediana (ED<sub>50</sub>) foi de 857,87  $\mu\text{L.L}^{-1}$  para todos os resultados obtidos em todos os isolados testados. Sendo o óleo que apresentou maior valor na estimativa da dose efetiva mediana (ED<sub>50</sub>) para os isolados do gênero *A. alternata* e *L. theobromae* testados. (Tabelas 8, 9 e 10).

##### 4.4.2 Manjeriço (*Ocimum micranthum*)

Os valores de ED<sub>50</sub> estimados nos isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* para o óleo de manjeriço foram intermediários entre 354,2  $\mu\text{L.L}^{-1}$  e 592,6  $\mu\text{L.L}^{-1}$ , excetuando para o isolado LPPC 50, onde esse óleo foi o mais eficiente (Tabela 8).

O óleo essencial de manjeriço (*O. micranthum*), com ED<sub>50</sub> de 283,62  $\mu\text{L.L}^{-1}$ , 297,97  $\mu\text{L.L}^{-1}$ , e 361,55  $\mu\text{L.L}^{-1}$  para os isolados de *Alternaria alternata*, LPPC 64, LPPC 70, LPPC 09, respectivamente, foi o segundo óleo que melhor respondeu à estimativa da capacidade de inibição de 50% do crescimento micelial (Tabela 9).

O óleo de manjeriço foi o segundo óleo mais efetivo com ED<sub>50</sub> de 299,44  $\mu\text{L.L}^{-1}$  para LPPC 05 e 329,14  $\mu\text{L.L}^{-1}$  para o LPPC 83, isolados de *L. theobromae* (Tabela 10).

##### 4.4.3 Capim-limão (*Cymbopogon citratus*)

Em trabalhos realizados por Lorenzetti et al. (2011), o óleo essencial de capim-limão reduziu em mais de 30% o crescimento *in vitro* do fungo *C. gloeosporioides*, na dose de 200  $\mu\text{L L}^{-1}$ . Porém os resultados obtidos no presente trabalho com o óleo essencial de Capim-limão (*C. citratus*) foi o que apresentou maior estimativa da concentração necessária para inibir em 50% o crescimento micelial do fungo, com ED<sub>50</sub> de 1.132,46  $\mu\text{L.L}^{-1}$  (LPPC 10), 1.062,4  $\mu\text{L.L}^{-1}$  (LPPC 43), 932,7  $\mu\text{L.L}^{-1}$  (LPPC 50), 899,4  $\mu\text{L.L}^{-1}$  (LPPC 84), 696,5  $\mu\text{L.L}^{-1}$  (LPPC 57), sendo então o óleo menos eficiente para os isolados de *C. gloeosporioides* (Tabela 8).

O óleo essencial de *Cymbopogon citratus* obteve resultados de ED<sub>50</sub> com doses consideradas elevadas (717  $\mu\text{L.L}^{-1}$ , 646,17  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) para os isolados de *A. alternata*, LPPC 09 e LPPC 64, respectivamente (Tabela 9).

Já os valores da dose efetiva mediana ED<sub>50</sub> estimados para o óleo de capim-limão sobre os isolados de *L. theobromae*, são considerados elevados, 722,36  $\mu\text{L.L}^{-1}$  (LPPC 05) e

718,5  $\mu\text{L.L}^{-1}$  (LPPC 83) (Tabela10).

#### **4.4.3 Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*)**

O menor valor de  $\text{ED}_{50}$  para a maioria dos isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* foi observado para o óleo de alecrim-pimenta (*L. sidoides*) com valores no intervalo de 246,75  $\mu\text{L.L}^{-1}$  a 379,4  $\mu\text{L.L}^{-1}$  e apenas para o isolado LPPC 50 sendo o segundo óleo o mais eficiente com a  $\text{ED}_{50}$  estimada em 238,68  $\mu\text{L.L}^{-1}$  (Tabela 8).

Entre os óleos essenciais avaliados no experimento com *Alternaria spp.* o óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) foi o mais eficiente, com  $\text{ED}_{50}$  187,48  $\mu\text{L.L}^{-1}$  para LPPC 09 e LPPC 70, e 223,11  $\mu\text{L.L}^{-1}$  para LPPC 64. Sendo estas as menores doses estimadas de óleo essencial para inibir 50% dos fungos (Tabela 9).

Nos valores estimados de  $\text{ED}_{50}$  para os isolados de *L. theobromae*, o óleo essencial de alecrim-pimenta foi o mais eficiente, com  $\text{ED}_{50}$  de 187,48  $\mu\text{L.L}^{-1}$  (Tabela 10).

Tabela 8 - Dose efetiva mediana (ED<sub>50</sub>) (μL.L<sup>-1</sup>), equações de regressão e coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) de óleos essenciais de Alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*), Manjerição (*Ocimum micranthum*), Capim-limão (*Cymbopogon citratus*), Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) para a inibição in vitro do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* - todos os isolados.

***Colletotrichum gloeosporioides* (LPPC 57)**

Óleos essenciais	ED <sub>50</sub> (μL.L <sup>-1</sup> )	Equações de Regressão	R <sup>2</sup>
<i>O. gratissimum</i>	857,87	$y = 0,0538x + 3,8462$	0,9423
<i>O. micranthum</i>	354,98	$y = 0,1217x + 6,7986$	0,9639
<i>C. citratus</i>	696,53	$y = 0,0504x + 14,895$	0,6686
<i>L. sidoides</i>	347,73	$y = 0,1302x + 4,7257$	0,9844

***Colletotrichum gloeosporioides* (LPPC 43)**

Óleos essenciais	ED <sub>50</sub> (μL.L <sup>-1</sup> )	equação	R <sup>2</sup>
<i>O. gratissimum</i>	857,87	$y = 0,0538x + 3,8462$	0,9423
<i>O. micranthum</i>	396,03	$y = 0,1359x - 3,82$	0,9906
<i>C. citratus</i>	1062,38	$y = 0,0522x - 5,4566$	0,9902
<i>L. sidoides</i>	287,5	$y = 0,1237x + 14,437$	0,8595

***Colletotrichum gloeosporioides* (LPPC 10)**

Óleos essenciais	ED <sub>50</sub> (μL.L <sup>-1</sup> )	Equações de Regressão	R <sup>2</sup>
<i>O. gratissimum</i>	857,87	$y = 0,0538x + 3,8462$	0,9423
<i>O. micranthum</i>	345,2	$y = 0,1299x + 5,1629$	0,9814
<i>C. citratus</i>	1132,45	$y = 0,0496x - 6,1697$	0,9086
<i>L. sidoides</i>	246,758	$y = 0,1197x + 20,463$	0,7403

***Colletotrichum gloeosporioides* (LPPC 84)**

Óleos essenciais	ED <sub>50</sub> (μL.L <sup>-1</sup> )	Equações de Regressão	R <sup>2</sup>
<i>O. gratissimum</i>	857,87	$y = 0,0538x + 3,8462$	0,9423
<i>O. micranthum</i>	592,6	$y = 0,0901x - 3,3943$	0,9833
<i>C. citratus</i>	899,3	$y = 0,0524x + 2,8761$	0,8731
<i>L. sidoides</i>	379,4	$y = 0,1339x - 0,7986$	0,9996

***Colletotrichum gloeosporioides* (LPPC 50)**

Óleos essenciais	ED <sub>50</sub> (μL.L <sup>-1</sup> )	Equações de Regressão	R <sup>2</sup>
<i>O. gratissimum</i>	857,87	$y = 0,0538x + 3,8462$	0,9423
<i>O. micranthum</i>	187,48	$y = 0,1143x + 28,571$	0,5714
<i>C. citratus</i>	932,74	$y = 0,046x + 7,0938$	0,9516
<i>L. sidoides</i>	238,68	$y = 0,1189x + 21,62$	0,716

Fonte: Amorim, 2017.

Tabela 9 - Dose efetiva mediana (ED<sub>50</sub>) (μL.L<sup>-1</sup>), equações de regressão e coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) de óleos essenciais de Alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*), Manjerição (*Ocimum micranthum*), Capim-limão (*Cymbopogon citratus*), Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) para a inibição *in vitro* do crescimento micelial de *Alternaria alternata* (LPPC 09, LPPC 64 E LPPC 70).

<b><i>Alternaria alternata</i> (LPPC 09)</b>			
Óleos essenciais	ED <sub>50</sub> (μL.L <sup>-1</sup> )	Equações de Regressão	R <sup>2</sup>
<i>O.gratissimum</i>	857,87	y = 0,0538x + 3,8462	0,9423
<i>O. micranthum</i>	361,55	y = 0,0947x + 15,761	0,7505
<i>C. citratus</i>	717,11	y = 0,0512x + 13,284	0,6655
<i>L. sidoides</i>	187,48	y = 0,1143x + 28,571	0,5714
<b><i>Alternaria alternata</i> (LPPC 64)</b>			
Óleos essenciais	ED <sub>50</sub> (μL.L <sup>-1</sup> )	Equações de Regressão	R <sup>2</sup>
<i>O.gratissimum</i>	857,87	y = 0,0538x + 3,8462	0,9423
<i>O. micranthum</i>	283,62	y = 0,1233x + 15,029	0,9423
<i>C. citratus</i>	646,14	y = 0,0484x + 18,725	0,6709
<i>L. sidoides</i>	223,11	y = 0,1175x + 23,784	0,6703
<b><i>Alternaria alternata</i> (LPPC 70)</b>			
Óleos essenciais	ED <sub>50</sub> (μL.L <sup>-1</sup> )	Equações de Regressão	R <sup>2</sup>
<i>O.gratissimum</i>	857,87	y = 0,0538x + 3,8462	0,9423
<i>O. micranthum</i>	297,97	y = 0,1248x + 12,813	0,8877
<i>C. citratus</i>	-41,64	y = 0,0316x + 51,316	0,3158
<i>L. sidoides</i>	187,48	y = 0,1143x + 28,571	0,5714

Fonte: Amorim, 2017.



Tabela 10 - Dose efetiva mediana (ED<sub>50</sub>) (μL.L<sup>-1</sup>), equações de regressão e coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) de óleos essenciais de Alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*), Manjerição (*Ocimum micranthum*), Capim-limão (*Cymbopogon citratus*), Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) para a inibição *in vitro* do crescimento micelial de *Lasiodiplodia theobromae* (LPPC 05 e LPPC 83).

<b><i>Lasiodiplodia theobromae</i> (LPPC 05)</b>			
Óleos essenciais	ED <sub>50</sub> (μL.L <sup>-1</sup> )	Equações de Regressão	R <sup>2</sup>
<i>O. gratissimum</i>	857,87	$y = 0,0538x + 3,8462$	0,9423
<i>O. micranthum</i>	299,44	$y = 0,125x + 12,569$	0,8917
<i>C. citratus</i>	722,36	$y = 0,0445x + 17,855$	0,8732
<i>L. sidoides</i>	187,48	$y = 0,1143x + 28,571$	0,5714

<b><i>Lasiodiplodia theobromae</i> (LPPC 83)</b>			
Óleos essenciais	ED <sub>50</sub> (μL.L <sup>-1</sup> )	Equações de Regressão	R <sup>2</sup>
<i>O. gratissimum</i>	857,87	$y = 0,0538x + 3,8462$	0,9423
<i>O. micranthum</i>	329,14	$y = 0,1281x + 7,8371$	0,957
<i>C. citratus</i>	718,5	$y = 0,0467x + 16,446$	0,8285
<i>L. sidoides</i>	187,48	$y = 0,1143x + 28,571$	0,5714

Fonte: Amorim, 2017.

## 5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos indicaram que todos os óleos essenciais são eficientes na inibição parcial ou total dos patógenos testados *in vitro* neste estudo e que existem respostas distintas na inibição do crescimento micelial dependendo das espécies dos patógenos, onde cada uma sofre uma ação diferente em relação aos óleos e às concentrações aplicadas.

O óleo essencial de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*) foi eficiente, inibindo totalmente o crescimento micelial das colônias de todos os isolados testados. Porém as doses aplicadas são consideradas elevadas, então estudos devem ser realizados para analisar os níveis de fitotoxidez, nos frutos.

O óleo essencial de manjerição (*Ocimum micranthum*), inibiu totalmente o crescimento dos isolados de *A. alternata*, *L. theobromae*, e a maioria dos isolados de *C. gloeosporioides*.

O óleo essencial de Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) foi o que apresentou maior toxicidade entre os óleos analisados, sendo necessário doses entre 187  $\mu\text{L.L}^{-1}$  a 379  $\mu\text{L.L}^{-1}$ . Em contrapartida o óleo essencial de Capim-limão (*Cymbopogon citratus*) apresentou menor toxicidade sendo necessário entre 646  $\mu\text{L.L}^{-1}$  a 1132  $\mu\text{L.L}^{-1}$ , doses necessárias para inibição de 50% do crescimento micelial da colônia dos patógenos testados neste estudo.

## REFERÊNCIAS

AGARWAL, M.; WALIA, S.; DRINGRA, S.; KHAMBAY, B. P.S. Insect growth inhibition, antifeedant and antifungal activity of compounds isolated/derived from Zingiber officinale Roscoe (ginger) rhizomes. *Pest Management Science*, 57, n.3, p.289- 300, 2001.

AGROSTAT – ESTATÍSTICA DE COMÉRCIO EXTERIOR DO AGRONEGÓCIO BRASILEIRO. 2016. Disponível em: < [indicadores.agricultura.gov.br/agrostat/index.htm](http://indicadores.agricultura.gov.br/agrostat/index.htm) >

ALMEIDA, G. A. A. E PORTO E. F. Efeito dos óleos essenciais de 4 espécies de plantas (*Lippia sidoides*, *Cymbopogon winterianus*, *Mentha arvensis*, *Ocimum gratissimum*) sobre *Lasiodiplodia theobromae* in vitro. Resumos XVII Encontro de Iniciação Científica, Fortaleza, CE, Não paginado. 2014.

ALVES, GILIARDI. *Alternaria alternata*. DefesaVegetal.Net. Associação Nacional de Defesa Vegetal (ANDEF), 2014. Disponível em: < <http://www.defesavegetal.net/glomci> >.

AMARAL, C. N.; GUARIM, V. L. M. S. Estudo Etnobotânico da Comunidade Rural de Cascavel (Jangada-MT). *Revista Brasileira de Biociências*, v. 5, supl. 1, p. 894-896, 2007.

ANDRADE, W.P.; VIEIRA, G.H.C. Efeito dos óleos essenciais sobre a antracnose in vitro e em frutos de mamoeiro. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Campinas, v.18, n.1, supl. I, p.367-372, 2016.

AQUINO C. F.; SALES, N. DE L. P.; SOARES, E. P. S.; MARTINS, E. R.. Ação e caracterização química de óleos essenciais no manejo da antracnose do maracujá. *Rev. Bras. Frutic. Jaboticabal - SP*, v. 34, n. 4, p. 1059-1067, Dezembro 2012.

AQUINO, C. F. et al. Composição química e atividade in vitro de três óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* do maracujazeiro. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.16, n.2, supl. 1, p.329-336, 2014.

ARAÚJO NETO, S. E. DE A.; FRANCISCO, W. DE M.; ANDRADE NETO, R. DE C. LUSTOSA, CAMILA; RIBEIRO, S. A. L. Controle Pós-Colheita da Antracnose do Maracujazeiro-Amarelo com Aplicação de Óleo de Copaíba. *Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP*, v. 36, n. 2, p. 509 -514, Junho 2014.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES E EXPORTADORES DE PAPAYA - BRAPEX. Disponível em: <<http://www.brapex.net/2013/index.asp>>. Acesso em: 14 de jun de 2017.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, Amsterdam, v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008.

BASSOLÉ, I. H. N.; LAMIEN-MEDA, A.; BALAYALA, B.; OBAME, L. C.; ILBOUDO, A. J.; FRANZ, C.; NOVAK, J.; NEBIÉ, R. C.; DICKO, M. H. Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus giganteus* essential oils alone na combination. *Phytomedicine*. V.18. p. 1070-1074, 2011.

BENATO, E.A., SIGRIS, J.M.M., HANASHIRO, M.M., MAGALHÃES, M.J.M. & BINOTTI, C.S. Avaliação de fungicidas e produtos alternativos no controle de podridões pós-colheita em maracujá-amarelo. *Summa Phytopathologica* 28:299-304. 2002.

BOMFIM, N.S. et al. Antifungal activity and inhibition of fumonisin production by *Rosmarinus officinalis* L. essential oil in *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg. *Food Chemistry*, Washington, v. 166, n. 1, p. 330-336, 2015.

BONETT, L.P.; MÜLLER, G.M.; WESSLING, C.R. et al. Extrato etanólico de representantes de cinco famílias de plantas e óleo essencial da família Asteraceae sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* coletados de frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.). *Revista Brasileira de Agroecologia*, v. 7, n. 3, p. 116-125, 2012.

BOTELHO, M. A.; NOGUEIRA, N. A. P.; BASTOS, G. M.; FONSECA, S. C. G.; et al. (2007). A atividade antimicrobiana do óleo essencial a partir de *Lippia sidoides*, carvacrol e timol contra agentes patogênicos orais. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 40: 349-356. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-879X2007000300010>>

CARNELOSSI, P. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; MESQUINI, R. M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. *Revista Brasileira de Plantas Medicináveis*, Botucatu, v.11, n.4, 2009. p.399-406 Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v11n4/a07v11n4.pdf>> Acesso em 15 jun. 2017.

CARRÉ, V., ZANELLA, A.L., BECKER, A., STANGARLIN, J., PAGLIOSA, L.A., SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. & GONÇALVES JR, A.C. Fungitoxicidade de quitosana e extrato de *Artemisia camphorata* a *Colletotrichum musae*. *Fitopatologia Brasileira* 27:291. 2002 (Resumo).

CARVALHO, A. F. U.; MELO, V. M. M.; CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I. L. et al. (2003). Atividade larvicida do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. contra o *Aedes aegypti* Linn. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 98: 569-571. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762003000400027>>

CASARRUBIAS-CARRILLO et al. Histopatología de frutos de papaya (*Carica papaya* L.) infectados por *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. *Mexican Journal of Phytopathology*, v. 20, p. 88-93, 2002.

CASTRO, L. O.; RAMOS, R. L. D. Principais gramíneas produtoras de óleos essenciais. *Boletim Técnico da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária*, n. 11, 2003.

CASTRO, R. A.; MENDES-COSTA M. C.; CASTRO, A. H. F.; CASTRO NETO, P.; FRAGA, A. C.; GUIMARÃES, I.; NEVES, N. G. Atividade fungitóxica do óleo fixo e de extratos de mamona em *Colletotrichum lindemuthianum*. In: 2º Congresso Brasileiro de mamona, 2006, Aracajú. Resumos... Aracajú: Embrapa, 2006.

CAVALCANTI, S. C. H.; E DOS, N. S.; CÂMARA, C. A. G.; et al. (2010). Composição e atividade acaricida de *Lippia sidoides* óleo essencial contra o aranhaço de duas manchas

(*Tetranychus urticae* Koch). Bioresour. Technol. 101: 829-832. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.08.053>>

CERDEÑO, V.J.M. Hábitos de compra y consumo de frutas y hortalizas - Resultados del Observatorio del Consumo y la Distribución Alimentaria. Revista Distribución y Consumo. n. 88, p.05-28, 2006.

CIA, P. Avaliação de agentes bióticos e abióticos na indução de resistência e no controle pós-colheita da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) em mamão (*Carica papaya*). 2005. 197p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

DI STASI, L. C.; OLIVEIRA, G. P.; CARVALHAESA, M. A.; QUEIROZ-JUNIORA, M.; TIENA, O. S.; KAKINAMIA, S. H.; REISB, M. S. Medicinal plants popularly used in the Brazilian Tropical Atlantic Forest. Fitoterapia v. 73, p. 69-91, 2002.

DIAS, J. A. *Colletotrichum Gloeosporioides*, DefesaVegetal.Net. Associação Nacional de Defesa Vegetal (ANDEF), 2014. Disponível em: <<http://www.defesavegetal.net/glomci>>

EMBRAPA. 2009. Coleta, conservação, caracterização, documentação e uso de plantas medicinais e aromáticas de ocorrência na Amazônia Oriental. Disponível em <<http://plataformarg.cenargen.embrapa.br/rede-vegetal/projetos-componentes/pc7-bancos-ativos-de-germoplasma-de-especies-medicinais-aromaticas-corantes-e-inseticidas/planos-de-acao/pa7-coleta-conservacao-caracterizacao-documentacao-e-uso-de-plantas-medicinais-e-aromaticas-de-ocorrencia-na-amazonia-oriental>>. Acesso em: 02/ abr/ 2017.

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS – EPAMIG, Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 26, n. 228, p. 25-29, 2005. ISSN 0100-3364.

FAO. FAOSTAT. ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO. Divisão de estatística. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>>. Acesso em: 13 jun. 2017.

FERREIRA NETO, P. D. Efeito fungitóxico do óleo essencial de *Lippia gracilis* sobre *Alternaria* spp. 2016. 47f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2016.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. Ciência e Agrotecnologia. V.35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FIGUEIREDO, P. L. B.; BICHARA JUNIOR, T. W.; SILVA, S. G.; NASCIMENTO, L. D.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S. Composição química dos voláteis das folhas/ramos e inflorescência de *Ocimum campechianum* (lamiaceae) por HD e DES. 54° CBQ, 2014.

FONTENELLE, R. O. S. et al. Chemical composition, toxicological aspects and antifungal activity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. V.59, p. 934-940, 2007.

FONTES, R.V.; SANTOS, M.P.; FALQUETO, A.R.; SILVA, D.M. Atividade da pectinametilesterase e sua relação com a perda de firmeza da polpa de mamão cv. Sunrise Solo e Tainung 1. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.30, n.1, p.054-058, 2008.

FRANCO, D.A. & BETTIOL, W. Controle de *Penicillium digitatum* em pós-colheita de citros com produtos alternativos. *Fitopatologia Brasileira* 25:602-606. 2000.

GADELHA, J. C. et al. Defensivos naturais no tratamento pós-colheita do pedúnculo de melão. *Revista Ciência Agronômica*, v. 34, n. 01, p. 5-10, 2003.

GAMAGAE, S.U. et al. Use of sodium bicarbonate and *Candida oleophila* to control anthracnose in papaya during storage. *Crop Protection*, v. 22, n. 7, p. 775-779, 2003.

GUIRALDO, N. et al. Controle de doenças em sistemas agroecológicos. *Summa Phytopathologica*. v.30, n.01, p.153-156, 2004.

GUPTA, O.; NEMA, K. G. Effect of diferente temperature and relative humidity on the development of fruit rots of papaya caused by *Botryodiplodia theobromae* and *Colletotrichum gloeosporioides*. *Indian Phytopathology*, New Delhi, v. 32, p. 106-107, 1979.

HALFELD-VIEIRA, B. A.; NECHET, K. L.; SOUZA, G. R. Influência de meios de cultura e regimes de luz na esporulação e crescimento micelial de *Lasiodiplodia theobromae*. *Boa Vista: Embrapa-CPAFRR*, 2007. 14p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 02)

HUSSAIN, A.; ANWAR, F.; NIGAM, P. S.; ASHRAF, M.; GILANI, A. H. Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 90, p. 1827-1836, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE ESTATÍSTICA E GEOGRAFIA – IBGE - Produção agrícola municipal – PAM. Culturas Temporárias E Permanentes / IBGE. - V.1 (1974- ). - Rio de Janeiro: IBGE, 1977-v.Anual. Continuação de: Levantamento da produção agrícola municipal = ISSN 0100-543X. ISSN 0101-3963 = Produção agrícola municipal.

JACOMINO, A.P.; KLUGE, R.A. BRACKMANN, A.; CASTRO, P.R.C. Amadurecimento do mamão com 1-metilciclopropeno. *Scientia Agrícola*, v.59, n.2, p.303-308. 2002.

JARAMILLO, B. E. C.; DUARTE E. R.; DELGADO W. Bioatividade do óleo essencial de *Ocimum micranthum* Willd Coletado do departamento de Bolívar, Colômbia. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 2014; 19 (2): 185-196

JÚNIOR, H.J.T.; MELLO, M. B. A.; JÚNIOR, N.S.M. Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanáceas. *Crops*, v. 32, n. 1, p. 71-79, 2006.

JUNQUEIRA, N.T.V.; JUNQUEIRA, K.P. Principais doenças de anonáceas no Brasil: descrição e controle. v. 36, edição especial, e., p. 055-064, Janeiro 2014.

KADER, A.A. Postharvest technology of horticultural crops. 2nd ed. Oakland: University of Californis, Division of Agriculture and Natural Resources, 1992. 296p.

KAMEI, S. H.; COSTA, J. F. O.; BRITO NETTO, M. S.; ASSUNÇÃO, A. P.; LIMA, G. S. A. Identificação E Caracterização De Espécies De *Colletotrichum* Associadas À Antracnose De Anonáceas No Estado De Alagoas, v.36, edição especial, e., p. 209-216, fevereiro 2014.

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

LIMA, G. P.; SOUZA, T.M.; FREIRE, G. P., FARIAS, D. F.; CUNHA A.P.; RICARDO, LIMA, H. R. P.; KAPLAN, M. A. C.; CRUZ, A. V.M. de. Influência dos Fatores Abióticos na Produção e Variabilidade de Terpenóides em Plantas. Floresta e Ambiente, v.10, n.2, p.71-77. 2013.

LIMA, J. S.; CARDOSO, J. E.; MOREIRA, R. C.; ALVES, E. S.; LIMA, F. A.; ANJOS, LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; CARVALHO, S. M.; RODRIGUES, V. G.; GUIMARÃES, L. G. L.; (2011). Composição química e efeito fumigante do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. E monoterpenos contra *Tenebrio molitor* (L.) (Coleoptera: Tenebrionidae). Ciênc. Agrotec. 35 (4): 664-671.

LORENZETTI, E.R. et al. Bioatividade de óleos essenciais no controle de *Botrytis cinerea* isolado de morangueiro. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu, v.13, n. especial, p.619-627, 2011.

LORENZI, H. E.; MATOS, F. J. A. (2002). Plantas Mediciniais no Brasil: Nativas e exóticas. 1º ed. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, Nova Odessa.

MARQUES, S. S.; SANTOS, M. P.; ALVES, E. S. S.; VILCHES, T. T. B.; SANTOS, R. B.; VENTURA, J. A.; FERNANDES, P. M. B. Uso de óleos essenciais no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da antracnose em frutos do mamoeiro. Papaya Brasil, 2003, p. 591-593. Disponível em: <[www.fundagres.org.br/downloads/pi.../2003\\_fitopatologia\\_05.pdf](http://www.fundagres.org.br/downloads/pi.../2003_fitopatologia_05.pdf)> Acesso em: 14 jun.2017.

MARTINS, C. R.; FARIAS, R. de M. Produção de alimentos x desperdício: tipos, causas e como reduzir perdas na produção agrícola – revisão. Revista da FZVA, Uruguaiana, v. 9, n. 1, p. 20-32, 2002.

MATASYOH L.G.; MATASYOH J.C.; WACHIRA F.N.; KINYUA M.G.; THAIRU A.W.M., MUKIAMA T.K. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. growing in Eastern Kenya. African. Journal of Biotechnology, 6, p. 760-765. 2007.

MATOS, A.P.; COSTA, D.C.; SILVA, J.R.; SOUZA, L.F.S.; SANCHES, N.F.; CORDEIRO, MILANESI, P. M.; BLUME, E.; MUNIZ, M. F. B.; BRAND, S. C.; JUNGES, E.; MANZONI, C. G.; WEBER, M. N. D. Ação fungitóxica de extratos vegetais sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*. Revista da FZVA. Uruguaiana, v.16, n.1, p.01-13, 2009.

MILLEZI, A.F.; CAIXETA, D.S.; ROSSONI, D.F.; CARDOSO, M.G.; PICCOLI, R.H. In vitro antimicrobial properties of plant essential oils *Thymus vulgaris*, *Cymbopogon citratus* and *Laurus nobilis* against five important foodborne pathogens. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 32, n. 1, p. 167-172, 2012.

MIRANDA, C. A. S. F. et al. Chemical composition and allelopathic activity of *Parthenium hysterophorus* and *Ambrosia polystachya* weeds essential oils. *American Journal of Plant Sciences*, Washington, v.5, n.9, 1248-1257, 2014. ISSN 2158-2750.

MONTEIRO, ELIS CARINE. Uso de plantas medicinais no controle de antracnose em frutos de morango. 27 p. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Campus de Curitibanos, Graduação em Agronomia, Curitibanos, 2017.

MONTELES, R.; PINHEIRO, C. U. B. Plantas medicinais em um quilombo maranhense: uma perspectiva etnobotânica. *Revista de biologia e ciências da terra*, v. 7, n. 2, 2007.

MORANDI, M. A. B; BETTIOL, W. Controle Biológico de Doenças de Plantas no Brasil. In: *Biocontrole de Doenças de Plantas: Uso e Perspectivas*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, cap. 9, p. 140, 2009.

MOREIRA, L.M.; MAY-DE MIO, L.L.; ANHUEZA, A.; R.M., LIMA; M.L.R.Z. & POSSAMAI, J.C. Controle em pós-colheita de *Monilia Fructicola* em pêssegos. *Fitopatologia Brasileira* 27:395-398. 2002.

MOTA, W.F.; MARTINS, A.M.; ARAÚJO, M.W.; MIZOBUTSI, G.P.; LIMA, J.F.; MOREIRA, G.B.L. Utilização da atmosfera modificada com filme de PVC e cera na conservação pós-colheita de banana 'Prata Anã'. *Magistra*, v.24, n.2, p.108-115, 2012.

MOURA, Luiziana Barbosa. Estudo do crescimento bacteriano na presença de óleos essenciais de *Dysphania ambrosioides* L. e *Ocimum campechianum* Mill. Para avaliar seus potenciais como antissépticos bucais. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Belém, 2015.

NAKAMURA, C.V.; ISHIDA, K.; FACCIN, L.C.; FILHO, B.P.; CORTEZ, D.A.; ROZENTAL, S.; DE SOUZA, W.; NAKAMURA, T.U. In vitro activity of essential oil from *Ocimum gratissimum* L. against four *Candida* species. *Res. Microbiol.* v.155, p.579-586, 2004.

NERI, F.; MARI, M.; BRIGATI, S. Control of *Penicillium expansum* by plant volatile compounds. *Plant Pathology*, Malden, v. 55, n. 1, p. 100-105, 2006.

NERY-SILVA, Flávia Andrea et al. Metodologia de inoculação de fungos causadores da podridão peduncular em mamão. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 31, p. 1374-1379, 2007.

OLIVEIRA, A. A. R.; SANTOS FILHO, H. P. Podridões pedunculares do mamoeiro. *Mamão: em foco*, Cruz das Almas, Embrapa, 2006.



OLIVEIRA, O. R.; TERAPO, D.; CARVALHO, A. C. P. P.; INNECCO, R.; CAVALCANTI, C. A. Efeito dos óleos essenciais de plantas do gênero *Lippia* sobre fungos contaminantes encontrados na micropropagação de plantas. *Revista Ciência Agronômica*, Fortaleza, v.39, n.1, p. 94-100, 2008.

PAULA, J.P.; GOMES-CARNEIRO, M.R.; PAUMGARTTEN, F.J.R. Chemical composition, toxicity and mosquito repellency of *Ocimum selloi* oil. *Journal of Ethnopharmacology*, v.88, p.253-260, 2003.

PEREIRA, Aurenice L.; SILVA, Gilson S. and RIBEIRO, V. Q..Caracterização fisiológica, cultural e patogênica de diferentes isolados de *Lasiodiplodia theobromae*. *Fitopatol. bras.* [online]. 2006, vol.31, n.6, pp.572-578. ISSN 0100-4158. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582006000600006>.

PEREIRA, R. de C. A.; MOREIRA, A. L. M. Manjerição: cultivo e utilização. Documentos / Embrapa Agroindústria Tropical, ISSN 2179-8184, 136. Fortaleza : Embrapa Agroindústria Tropical, 2011. 31 p.

PIMENTEL, F.A.; CARDOSO, M.G; SALGADO, A.P.S.P.; AGUIAR, P.M.; SILVA, V.F.; MORAIS, A.R.; Método para determinação de umidade de plantas aromáticas. Comunicado Técnico, v. 136. Embrapa Agroindústria Tropical, 2008.

PINHEIRO, C. D. F.; SARGENTINI JUNIOR, Ézio ; PINHEIRO, C. C. S. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE ALFAVACA BRAVA (*Ocimum campechianum* MILL.) I Congresso de Iniciação Científica PIBIC/CNPq - PAIC/FAPEAM Manaus – 2013.

PLOTTO, A.; ROBERTS, D.D.; ROBERTS, D.G. Evaluation of plant essential oils as natural postharvest disease control of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Acta Horticulturae*, Wellington, v. 628, n. 1, p. 737-745, 2003.

PREMJANU, N.; JAYNTHY, C.; DIVIYA, S. (2016). LILACS - Atividade antifúngica de fungos endofíticos isolados de *lannea coromandelica*; *Int. J. Pharm. Pharm. Sei.* 8 (5): 207-210.

PRUSKY, D. et al. The level of quiescent infection of *Alternaria alternata* in mango fruits at harvest determines the postharvest treatment applied for the control of rots during storage. *Postharvest Biology and Technology*, v.25, p.339-347, 2003.

PUNITHALINGAM, E. Plant diseases attributed to *Boryodiplodia theobromae*. Vaduz: Pat. J. Cramer, 19980. 123 p.

RATNAWEERA, P. B.; DE SILVA, E. D.; WILLIAMS, D. E.; ANDERSEN, R. J.; (2015). Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos obtidos a partir da planta invasora de zona árida *Opuntia dillenii* e o isolamento de equisetina, de *Fusarium* sp.

REGNIER, T.; PLOOY, W.; COMBRINCK, S.; BOTHA, B. Fungitoxicity of *Lippia scaberrima* essential oil and selected terpenoid components on two mango postharvest spoilage pathogens. *Postharvest Biology and Technology*, v. 48, p. 254-258, 2008.

ROZWALKA, L. C.; LIMA, M. L. R. Z. C.; MIO, L. L. M.; NAKASHIMA, T. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.38, n.2, p.301-307, mar-abr, 2008. ISSN 0103-8478

ROZWALKA, L.C. Controle alternativo da antracnose em frutos de goiabeira, em laboratório. 2003. 42p. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de concentração em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná.

SACCHETTI, G.; MEDICI, A.; MAIETTI, S.; RADICE, M.; MUZZOLI, M.; MANFREDINI, S.; BRACCIOLI, E.; BRUNI R. Composition and Functional Properties of the Essential Oil of Amazonian Basil, *Ocimum micranthum* Willd., Labiatae in Comparison with Commercial Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, n. 11, p. 3486-3491, 2004.

SANTOS, A. C. A.; ROSSATO, M.; SERAFINI, L. A.; BUENO, M.; CRIPPA, L. B.; SARTORI, V. C.; DELLACASSA, E.; MOYANA, P. Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, n. 2, p. 154-159, 2010.

SANTOS, C. P.; OLIVEIRA, T. C.; PINTO, J.A.O.; FONTES, S.S; CRUZ, E. M. O.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; ANDRADE, T. M.; MATOS, I.L.; ALVES, P. B.; INNECCO, R.; BLANK, A. F. Chemical diversity and influence of plant age on the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. *Germplasm. Industrial Crops and Products*. v. 76, p. 416-421, 2015.

SANTOS, C. P.; PINHEIRO, J. B.; ZUCCHI, M. I.; BAJAY, M. M.; CAMPOS, J. B.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; PINTO, J. A. O.; BLANK, A. F.; (2016). Diversidade genética de *Lippia sidoides* Cham. E germplasma de *L. gracilis* Schauer. *Genet. Mol. Res.* 15 (3): 1-22.

SEBRAE – Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Sistema De Inteligência De Mercado, Boletim De Inteligência – Agronegócio Fruticultura. Outubro, 2015.

SEIXAS, P. T. L.; CASTRO, H. G.; CARDOSO, D. P.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; NASCIMENTO, I. R. Bioactivity of essential oils on the fungus *Didymella bryoniae* of the cucumber culture, *Brazilian Journal of Applied Technology For Agricultural Science*, v. 5, n. 3, p. 61-66, 2012.

SELLAMUTHU, P. S.; SIVAKUMAR, D.; SOUNDY, P. Antifungal activity and chemical composition of thyme, peppermint and citronella oils in vapor phase against avocado and peach postharvest pathogens. *Journal of Food Safety*, Westport, v. 33, p. 86-93, 2013.

SHAH G, SHRI R, PANCHAL V, SHARMA N, SINGH B, MANN A S. Base científica para o uso terapêutico de *Cymbopogon citratus*, stapf (Lemon grass). *J Adv Pharm Technol Res*

[serial online] 2011 [cited 2017 Jun 6]; 2: 3-8. Disponível em: <<http://www.japtr.org/text.asp?2011/2/1/3/79796>>

SILVA, M. DE S. Desempenho de variedades de mamoeiro em clima subtropical do estado de São Paulo. Dissertação (Mestrado). Botucatu: [s.n.], 2016.

SILVA, M. G. V.; CRAVEIRO, A. A.; MATOS, F. J. A.; MACHADO, M. I. L.; ALENCAR, J. W. Chemical variation during daytime of constituents of the essential oil of *Ocimum gratissimum* leaves. *Fitoterapia*, 70, 32, 1999.

SILVA, M. G. V.; CRAVEIRO, A. A.; MATOS, F. J. A.; MACHADO, M. I. L.; ALENCAR, J. W. Essential Oil Composition of the Leaves of *Ocimum micranthum* Willd. *Journal of Essential Oil Research*. v.16, No. 3, p.189-190, 2004.

SILVA, M. G. V.; MATOS, F. J. A.; LOPES, P. R. O.; SILVA, F. O.; HOLANDA, M. T. Composition of essential oils from three *Ocimum* species obtained by steam and microwave distillation and supercritical CO<sub>2</sub> extraction. *Arkivoc Online Ed.*, v. vi, p. 66-71, 2004.

SILVEIRA, N. S. S.; MICHEREFF, S. J.; SILVA, I. L. do S. S. da; OLIVEIRA, S. M. A. de. Doenças fúngicas pós-colheita em frutas tropicais: patogênese e controle. *Caatinga*, Mossoró, v.18, n.4, p.283-299, out./dez, 2005.

SOARES, A. M. S.; PENHA, T. A.; ARAÚJO, S. A.; CRUZ, E. M. O.; COSTA-JUNIOR, L. M. (2016). Avaliação de diferentes genótipos de *Lippia sidoides* em relação à sua atividade acaricida contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Rev. Bras. Parasitol. Veterinario*. 25 (4): 401-406.

SOUSA, Aline Ellen Duarte de. Atividade antifúngica de óleos vegetais no controle de podridão-por-fusarium em melão e fusariose em abacaxi. 81f. (Dissertação Mestrado em Agronomia: Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró, 2010.

SOUZA JÚNIOR, I. T.; SALES, N. L. P.; MARTINS, E. R. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. *Revista Biotemas*, n.22, v.3, setembro, 2009. Disponível em: <[www.biotema.ufsc.br/volumes/pdf/volume223/77a83.pdf](http://www.biotema.ufsc.br/volumes/pdf/volume223/77a83.pdf)> Acesso em: 15 jun. 2017.

SOUZA, A.E.F.; ARAUJO, E.; NASCIMENTO, L.C. Atividade antifúngica de extratos de alho e capim-santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolado de grãos de milho. *Fitopatologia Brasileira*. São Paulo - SP. n.32, p.465-471, 2007.

TAO, N.; JIA, L.; ZHOU, H. Anti-fungal activity of *Citrus reticulata* Blanco essential oil against *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum*. *Food Chemistry*, Washington v. 153, n.1, p. 265-271, 2014.

TAVARES, G. M.; SOUZA, P. E. de. Efeito de fungicidas no controle in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente etiológico da antracnose do mamoeiro (*Carica papaya* L.). *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 29, n. 1, p. 52-59, 2005.

TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J., FERRARI, J.T. *Alternaria* spp. em oleráceas: sintomas, etiologia, manejo e fungicidas. *Biológico*, São Paulo, v.77, n.1, p.21-34, jan./jun., 2015

VAN VUUREN, S.F. Antimicrobial activity of South African medicinal plants. *J. Ethnopharmacol*, v.119, n.3, 462-472, 2008.

VENTURA, J. A.; COSTA, H., TATAGIBA, J. S. Manejo das doenças no mamoeiro. In: Martins, D. dos S.; Costa, A. de F. S. da (eds.) *A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção*. Vitória, ES: Incaper, 2003. 497p.

ZAMBOLIM, L.; COSTA, H.; VENTURA, J.A.; VALE, F.X.R. Controle de doenças pós-colheita de frutas tropicais. In: Zambolim, L. (Ed.). *Manejo integrado: fruteiras tropicais – doenças e pragas*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002. cap. 12, p.443-511.