



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA/FITOTECNIA

THAYANE FERREIRA MIRANDA

USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DA FUSARIOSE DO ABACAXI

FORTALEZA

2021

THAYANE FERREIRA MIRANDA

USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DA FUSARIOSE DO ABACAXI

Dissertação apresentada a Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Agronomia/Fitotecnia.
Área de concentração: Fitotecnia.

Orientador: Prof. Dr. Renato Innecco.

FORTALEZA

2021

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)

- M646u Miranda, Thayane Ferreira.
Uso de óleos essenciais no controle da fusariose do abacaxi / Thayane Ferreira Miranda. – 2021.
37 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia), Fortaleza, 2021.
Orientação: Prof. Dr. Renato Imecco .
1. Controle alternativo. . 2. Emulsionado.. 3. Lippia. sidoides.. 4. Cymbopogon winterianus.. 5. Fusarium guttiforme.. I. Título.

CDD 630

THAYANE FERREIRA MIRANDA

USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DA FUSARIOSE DO ABACAXI

Dissertação apresentada a Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Agronomia/Fitotecnia.
Área de concentração: Fitotecnia.

Aprovada em: 30 / 03 / 2021

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Renato Innecco (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Cristiano Souza Lima
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Wéverson Lima Fonseca
Colégio Técnico de Bom Jesus/Universidade Federal do Piauí

AGRADECIMENTOS

À Instituição CAPES, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Agradeço a DEUS, por ser a minha fortaleza e ter me sustentado durante essa fase na minha vida profissional. Reconheço que sem DEUS e o apoio da minha FAMÍLIA durante esse período não conseguiria chegar até aqui.

À Universidade Federal do Ceará (UFC) e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia (PPGAF), por ter me acolhido como aluna desse programa que contribuiu para o meu crescimento profissional e como pessoa. À Embrapa Agroindústria Tropical, pelo apoio durante a execução de todo o trabalho. Aos professores do Programa de Pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia pelos ensinamentos transmitidos.

A minha querida e amada MÃE, Maria Beatriz Ferreira Miranda que sempre me apoiou e me aconselhou em todos os momentos da minha vida. Ao meu pai Bento Barros Miranda pelo apoio. A minha Irmã Tamiris Ferreira Miranda, a quem tanto amo e que durante esse período foi fundamental receber o seu apoio e que sempre acreditou em mim. A minha irmã Luziane da Cunha Borges, que me apoiou e me deu força durante esse período.

Ao meu querido orientador, Prof. Dr. Renato Innecco, pela orientação, paciência, tranquilidade e simplicidade em repartir comigo seus conhecimentos, sua ajuda foi fundamental para concluir mais uma etapa da minha jornada profissional.

Ao pesquisador, Dr. Marlon Vagner Valentim Martins, pelo acolhimento no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa, pelas orientações e todo o apoio durante a realização deste trabalho. Ao Prof. Dr. Cristiano Lima, pelas conversas e esclarecimentos que me ajudaram muito ao longo deste trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Fitopatologia, Regimara Bernardo, Weverson Fonseca e Wallysson, por toda ajuda e apoio durante a execução deste trabalho. A técnica do laboratório Samara Oliveira, pelo acompanhamento dos trabalhos no laboratório.

Aos meus amigos, Francisco Linco, Johny Silva e Diene Miranda, pelo apoio diante dos desafios enfrentados. E a todos os colegas do Programa de Pós-graduação em Agronomia/Fitopatologia, pela convivência.

Eu plantei, Apolo regou; mas Deus deu o crescimento.
Por isso, nem o que planta é alguma coisa, nem o que rega, mas Deus, que dá o
crescimento.
(1 Coríntios 3:6,7)

RESUMO

O abacaxi é uma fruta de grande importância econômica, sendo cultivado em diversos países de clima tropical e subtropical. Um dos maiores entraves no cultivo do abacaxi é a fusariose, uma doença de difícil controle que pode levar a perda total de um plantio. Neste caso, o controle alternativo aliado as demais práticas de manejo da doença é de fundamental importância; sendo a utilização de óleos essenciais uma das opções mais promissoras dentro desse método de manejo de doenças. Os óleos essenciais de alecrim pimenta (*Lippia sidoides*) e capim citronela (*Cymbopogon winterianus*), apresentam em sua composição substâncias capazes de inibir o crescimento fúngico atuando como fungicida natural. Neste contexto, o presente trabalho tem o objetivo de avaliar diferentes concentrações do emulsionado a base de óleos essenciais de *L. sidoides* e *C. winterianus* no controle de *Fusarium guttiforme* in vitro e in vivo. No experimento in vitro foram testadas as seguintes concentrações do emulsionado (250, 500, 750, 1000 e 1250 $\mu\text{L.L}^{-1}$) uma testemunha e um controle com fungicida, sendo avaliados durante 15 dias. As concentrações de (1000 e 1250 $\mu\text{L.L}^{-1}$) do emulsionado influenciaram significativamente na inibição do crescimento micelial. Na inibição da germinação foram testadas as concentrações do emulsionado (250, 500, 750, 1000 e 1250 $\mu\text{L.L}^{-1}$) uma testemunha e um controle com fungicida, avaliadas as 6 e 24 horas após a incubação, nesse experimento a inibição as 6 h na concentração de 1250 $\mu\text{L.L}^{-1}$ foi de 100% comparado a testemunha. O efeito fungitóxico do emulsionado nas estruturas do patógeno foi confirmado via microscopia eletrônica de varredura-MEV, evidenciando o achatamento das hifas e o rompimento da parede celular. No experimento in vivo foi realizada a inoculação de frutos assintomáticos em três pontos distintos do fruto e posteriormente aplicados os tratamentos com as concentrações de (750, 1000, 1250, 1500 e 2000 $\mu\text{L.L}^{-1}$) uma testemunha (água) e um controle fúngico (fungicida). Foram avaliados o tamanho das lesões nos pontos de inoculação (largura e comprimento). No controle in vivo, não houve diferença significativa entre os tratamentos avaliados. Os experimentos in vitro e in vivo avaliaram o potencial fungicida do emulsionado de óleos essenciais no controle da fusariose do abacaxi. O emulsionado a base de óleos essenciais foi eficiente no controle in vitro de *F. guttiforme* na inibição de crescimento e na germinação de conídios; o mesmo apresenta componentes bioativos capazes de causar danos à parede celular fúngica.

Palavras-chave: Controle alternativo; Emulsionado; *Lippia sidoides*; *Cymbopogon winterianus*; *Fusarium guttiforme*.

ABSTRACT

Pineapple is a fruit of great economic importance, being grown in several countries with tropical and subtropical climate. One of the biggest obstacles in pineapple cultivation is fusariosis, a disease that is difficult to control and can lead to the total loss of a plantation. In this case, alternative control combined with other disease management practices is of fundamental importance; the use of essential oils is one of the most promising options for plant disease control. The essential oils of rosemary pepper (*Lippia sidoides*) and lemon grass (*Cymbopogon winterianus*), have in their composition substances capable of inhibiting fungal growth acting as a natural fungicide. In this context, the present work has the objective of evaluating different concentrations of the emulsified based on essential oils of *L. sidoides* and *C. winterianus* in the control of *Fusarium guttiforme* in vitro and in vivo. In the in vitro experiment, the following concentrations of the emulsifier (250, 500, 750, 1000 and 1250 $\mu\text{L.L}^{-1}$) were tested, a control and a fungicide control, being evaluated for 15 days. The concentrations of (1000 and 1250 $\mu\text{L.L}^{-1}$) of the emulsified agent significantly influenced the inhibition of mycelial growth. In the inhibition of germination, the concentrations of the emulsifier (250, 500, 750, 1000 and 1250 $\mu\text{L.L}^{-1}$) were tested, a control and a fungicide control, evaluated at 6 and 24 hours after incubation, in this experiment the 6 h inhibition in the concentration of 1250 $\mu\text{L.L}^{-1}$ was 100% compared to the control. The fungitoxic effect of the emulsifier on the pathogen's structures was confirmed via scanning electron microscopy-SEM, evidencing the flattening of the hyphae and the rupture of the cell wall. In the in vivo experiment, the inoculation of asymptomatic fruits was carried out in three different points of the fruit and later applied the treatments with the concentrations of (750, 1000, 1250, 1500 and 2000 $\mu\text{L.L}^{-1}$) a control (water) and a control fungal (fungicide). The size of the lesions at the inoculation points (width and length) were evaluated. In the in vivo control, there was no significant difference between the evaluated treatments. The in vitro and in vivo experiments evaluated the fungicidal potential of essential oils emulsified in the control of pineapple fusariosis. The emulsified oil based on essential oils was efficient in the in vitro control of *F. guttiforme* in the inhibition of growth and in the germination of conidia; it has bioactive components capable of causing damage to the fungal cell wall.

Keywords: Alternative control; Emulsified; *Lippia Sidoides*; *Cymbopogon winterianus*; *Fusarium guttiforme*.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Estruturas do patógeno de abacaxi *Fusarium guttiforme* Nirenberg; O'Donnell, 1998 14
- Figura 2 – Crescimento micelial in vitro de *F. guttiforme* submetidos a diferentes concentrações do emulsionado de óleos essenciais de *L. sidoides* e *C. winterianus*, uma testemunha e um tratamento com fungicida 26
- Figura 3 – Microscopia eletrônica de varredura de *F. guttiforme* tratadas com emulsionado de óleos de essenciais de *L. sidoides* e *C. winterianus* C, D, E, F, G, H e I (250, 500, 750, 1000, 1250, 1500 e 2000 μ L) respectivamente. Testemunha (A) e um tratamento com fungicida (B) 29
- Figura 4 – Controle de *F. guttiforme* em frutos de abacaxi inoculados artificialmente, submetidos as concentrações do emulsionado de óleos de essenciais de *L. sidoides* e *C. winterianus* (750, 1000, 1250, 1500 e 2000 μ L) uma testemunha e um tratamento com fungicida..... 31

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Inibição de crescimento micelial (%) de *F. guttiforme* em diferentes períodos, submetidos a diferentes concentrações do emulsionado de óleos essenciais de *L. sidoides* e *C. winterianus* 23
- Gráfico 2 – Inibição de crescimento micelial (%) de *F. guttiforme* submetidos a diferentes concentrações do emulsionado de óleos essenciais de *L. sidoides* e *C. winterianus*, avaliados durante 15 dias 24
- Gráfico 3 – Crescimento micelial (mm) de *F. guttiforme* submetidos a diferentes concentrações do emulsionado de óleos essenciais de *L. sidoides* e *C. winterianus*, avaliados ao longo do tempo 25
- Gráfico 4 – Inibição da germinação de conídios de *F. guttiforme* submetidos a diferentes concentrações do emulsionado de óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *Cymbopogon winterianus* 27
- Gráfico 5 – Análise do comprimento (mm) de lesões de *F. guttiforme* em frutos de abacaxi, submetidos a concentrações do emulsionado de óleos essenciais de *L. sidoides* e *C. winterianus* 30
- Gráfico 6 – Análise da largura (mm) de lesões de *F. guttiforme* em frutos de abacaxi, submetidos a concentrações do emulsionado de óleos essenciais de *L. sidoides* e *C. winterianus* 31

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1	Cultura do Abacaxi	13
2.2	Fusariose (<i>Fusarium guttiforme</i>).....	14
2.3	Plantas medicinais, aromáticas e os óleos essenciais.....	15
2.4	Alecrim Pimenta (<i>Lippia sidoides</i>).....	16
2.5	Capim Citronela (<i>Cymbopogon winterianus</i>).....	17
2.6	Controle Alternativo.....	18
3	METODOLOGIA	19
3.1	Emulsionado de óleos essenciais	19
3.2	Estirpe patogênica.....	19
3.3	Atividade antifúngica do emulsionado de óleos	19
3.4	Efeito fungitóxico do emulsionado de óleos	20
3.5	Efeito do emulsionado de óleos essenciais nas estruturas fúngicas	20
3.6	Controle in vivo no desenvolvimento de cepas em abacaxis	21
3.7	Análise estatística	22
4	RESULTADOS	22
5	CONCLUSÃO	33
	REFERÊNCIAS	34

1 INTRODUÇÃO

O abacaxi (*Ananas comosus* L.) é uma fruta tropical cultivada em vários estados e que apresenta grande importância econômica para a fruticultura brasileira. Sendo considerada pelos produtores como uma cultura que gera impactos positivos na renda (GALEANO; VENTURA, 2018). No Brasil as principais cultivares comerciais cultivadas, são: Pérola e Smooth Cayenne todas suscetíveis à fusariose (VENTURA *et al.*, 2009).

A fusariose tem sido um dos entraves na produção da cultura, por causar danos as plantas no campo e comprometer a produção dos frutos, sendo a principal doença da cultura do abacaxi e causando elevados danos (VENTURA; ZAMBOLIM, 2002). O patógeno *Fusarium guttiforme* Nirenberg & O'Donnell 1998 (sin. *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* Ventura, Zambolim & Gilb. 1993) (VENTURA *et al.*, 1993; NIRENBERG; O'DONNELL, 1998; MELO *et al.*, 2016), é considerado o agente causal da fusariose em abacaxi, causando grandes perdas na produção e gerando enormes danos econômicos. Com a presença desse patógeno em áreas de produção faz-se necessário a utilização do manejo integrado de doenças (CAETANO; VENTURA; BALBINO, 2015).

O controle da doença requer a utilização de um conjunto de práticas culturais, como a obtenção de variedades resistentes e tratos culturais aliados ao controle químico (NOGUEIRA *et al.*, 2014). O uso de produtos químicos tem sido o método de controle mais utilizado. Entretanto, gera danos ao meio ambiente, ao homem e também deixa resíduos nos frutos (SALES *et al.*, 2016). A utilização de práticas culturais alternativas é uma opção que deve ser aliada ao manejo da fusariose para diminuir os resíduos químicos e desenvolver técnicas eficientes no controle da doença.

Os óleos essenciais de alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham) e capim citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt), apresentam características favoráveis contra ação de fungos fitopatogênicos em diferentes culturas (MOURÃO *et al.*, 2019; ALI *et al.*, 2017). Inibindo o crescimento de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii* (AVANÇO *et al.*, 2017; HASHEM *et al.*, 2019; ALI *et al.*, 2017), entre outros patógenos. No entanto, não a estudos utilizando a emulsão dos óleos essenciais de alecrim pimenta e capim citronela no controle de *F. guttiforme*.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do emulsionado de óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *Cymbopogon winterianus*, no controle in vitro e in vivo da fusariose em abacaxi.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cultura do abacaxi

O abacaxizeiro (*Ananas comosus* var. *comosus*) é uma planta perene pertencente à família Bromeliaceae e possui uma inflorescência terminal que dá origem a uma infrutescência que após a sua maturação, a planta é induzida a produzir novas brotações que favorecem a propagação vegetativa da espécie (SANEWSKI; BARTHOLOMEW; PAULL, 2018).

Os primeiros relatos sobre a ocorrência natural do abacaxizeiro têm origem nas regiões central e sul do Brasil, no nordeste da Argentina e no Paraguai; o fruto recebeu o nome de “pinã” pelos espanhóis, pela semelhança do abacaxi com a pinha (COLLINS, 1960). O abacaxi é um nome de origem tupi do gênero *Ananas*, o mesmo era denominado pelos indígenas como “Abi”, que significa espinho ou agulha (HOEHNE, 1937). O abacaxi era uma das culturas cultivadas pelos indígenas em diferentes regiões, no Brasil e na América Central; as características do fruto, aparência e qualidade, fez com que o mesmo viesse a partir do século XVI, ser conhecido como espécie cultivada de importância econômica (CRESTANI *et al.*, 2010).

Na fruticultura brasileira a cultura do abacaxi apresenta grande importância econômica, sendo uma fruta de clima tropical que possui grande aceitação no mercado e apresenta também boas qualidades nutricionais. Segundo LIMA *et al.*, 2019, o abacaxi é uma fruta muito consumida e que apresenta qualidades organolépticas importantes. No mercado internacional o abacaxi está entre as três frutas tropicais mais importantes, depois da banana e das frutas cítricas (DING; SYAZWANI, 2016). O Brasil produziu cerca de 2.426.526 toneladas, representando 8,61% da produção mundial (FAO, 2019).

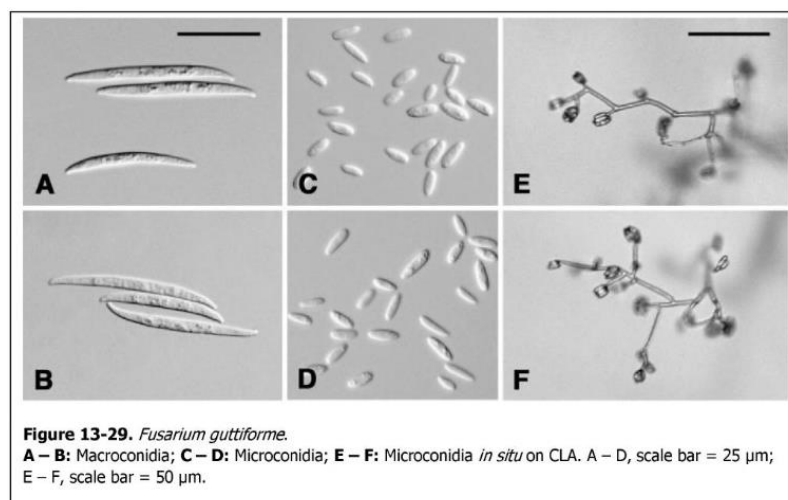
Existe uma grande variedade de abacaxis, essa diversidade genética pode ser observada através do porte da planta mãe, tamanho do fruto, ciclo da cultura, suscetibilidade a doenças, entre outras características importantes durante a seleção de uma variedade para ser cultivada. Segundo Ding; Syazwani (2016) verificou a existência de mais de 100 variedades, no entanto algumas variedades em torno de 6 a 8 estão presentes no mercado mundial. As principais variedades cultivadas comercialmente no Brasil estão a cultivar Pérola e Smooth Cayenne, entretanto um dos problemas identificados é a suscetibilidade à fusariose, causando perdas de 40% nos frutos e 20% no plantio comercial (VENTURA *et al.*, 2009).

2.2 Fusariose (*Fusarium guttiforme*)

As doenças que acometem a cultura tem sido um dos problemas que ocasionam danos à planta no campo e também nos frutos pós-colheita. Destaca-se entre as doenças, a fusariose causada por *F. guttiforme* (MELO *et al.*, 2016). A fusariose é uma doença que apresenta grande capacidade de dizimar plantações inteiras (GARCIA *et al.*, 2015), e pode afetar a produtividade gerando perdas significativas entre 50 e 100% dos frutos e diminuir em até 50% a sobrevivência das mudas (MATOS, 2003), sendo necessário para o manejo da doença a integração de várias práticas culturais (GARCIA *et al.*, 2017).

Segundo Nirenberg; O'Donnell (1998), *F. guttiforme* foi isolado de frutos de (*A. comosus*) sintomáticos que apresentavam lesão na base do fruto; o mesmo cultivado em meio Potato Dextrose Agar (PDA) apresenta coloração do hifa aéreo quase branca, curto e com semelhança de lã, no verso é observada a coloração cinza escuro e laranja-violeta; a esporulação é observada nas extremidades do hifa aéreo, os conídios são formados nos conidióforos e estão agregados em falsas cabeças; o esporodóquio é quase imperceptível, as fiálides do hifa aéreo são densas, apresentando 1 ou 2 fiálides em cada ramo e possuem formato cilíndrico, sendo a maior parte constituída de monofiálide do que polifiálide; os conídios são ovóides e na maioria apresentam septos. Os macroconídios produzidos nos esporodóquios apresentam 3 septos, e os microconídios no hifa aéreo (falsas cabeças) podem apresentar 1 septo (Figura 1) (LESLIE; SUMMERELL, 2006).

Figura 1. Estruturas do patógeno de abacaxi *Fusarium guttiforme* Nirenberg; O'Donnell, 1998.



Fonte: Leslie; Summerell (2006, p.180).

A principal porta de entrada de *Fusarium* em abacaxi dá-se por meio de aberturas naturais na antese das flores (SIMÃO, 1998), a estrutura das folhas também favorece o transporte de conídios que podem estar na superfície da mesma e ser levado com o auxílio da chuva ou da irrigação até a base da planta, no desenvolvimento lateral das gemas ou ferimentos causados durante o manejo, facilitando a infecção da planta no campo que posteriormente será fonte de propagação da doença (KIMATI *et al.*, 2005).

A fusariose é uma doença que atinge diferentes partes da planta. No entanto é recomendado no controle da doença o manejo integrado de práticas culturais, como seleção de material vegetal, inspeção de plantas sintomáticas no campo, erradicação de plantas infectadas (MATOS *et al.*, 2009) e à aplicação de fungicida no período de floração das plantas (CAETANO; VENTURA; BALBINO, 2015; BEZERRA *et al.*, 2019). De maneira geral é uma doença que ainda não existe um controle efetivo na erradicação da doença em uma área que tenha apresentado plantas com sintomas da doença.

2.3 Plantas medicinais, aromáticas e os óleos essenciais

As plantas medicinais e aromáticas constituem um grupo de plantas com características distintas por conta de seus princípios ativos e a presença de aroma. No entanto há diversos metabólitos sintetizados pelas plantas; os metabólitos primários estão relacionados diretamente ao crescimento e desenvolvimento; e os metabólitos secundários terpenos, compostos fenólicos e alcalóides são importantes na defesa da planta contra pragas e patógenos (TAIZ *et al.*, 2017). O estudo de plantas medicinais e seus componentes como defensivos naturais, apresentam inúmeras possibilidades de descobertas promissoras (SEIXAS *et al.*, 2011).

As plantas produzem metabólitos secundários que são utilizados contra a ação de patógenos. Os óleos essenciais são substâncias produzidas em diferentes partes da planta, sendo substâncias complexas que apresentam diferentes funções de autodefesa, atração e proteção (WOLFFENBUTTEL, 2019).

Os óleos essenciais são substâncias químicas sintetizadas pelas plantas que pertencem a classe dos terpenos (MAIA *et al.*, 2015). Constituído por mono e sesquiterpenos, sendo substâncias altamente voláteis (TAIZ *et al.*, 2017; KALEMBA; KUNICKA, 2003); e podem ser encontrados em caules, folhas, flores, rizomas e sementes (WOLFFENBUTTEL, 2019).

A estrutura de armazenamento do óleo essencial nas plantas pode variar de acordo com as espécies e as diferentes partes da planta. Os óleos essenciais podem ser encontrados

nos tricomas, idioblastos e canais resiníferos (TAIZ *et al.*, 2017; WOLFFENBUTTEL, 2019). Os mesmos são considerados como fonte potencial de moléculas bioativas (VERMA *et al.*, 2019).

Os óleos essenciais apresentam vários componentes químicos que desenvolvem entre si um sinergismo. Capsulas a base de óleos essenciais de pau-rosa e canela, apresentaram efeito antibacterianos contra *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* e *Staphylococcus aureus* (BARBOSA *et al.*, 2021).

Os óleos obtidos de diferentes espécies vegetais possuem inúmeras aplicabilidades seja de forma isolada ou combinada. A mistura do óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) e Nin (*Azadirachta indica* A. Juss) apresentou ação fungicida no controle de fitopatógenos, os resultados foram menos satisfatórios avaliando o efeito isolado dos óleos essenciais (ALI *et al.*, 2017). A mistura dos óleos de oregano e tomilho apresentou um efeito sinérgico na inibição de crescimento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* (PARK *et al.*, 2017).

2.4 Alecrim pimenta (*Lippia sidoides*)

O alecrim pimenta (*Lippia sidoides*) é um arbusto da família Verbenaceae de ocorrência natural na região Nordeste, a espécie é encontrada principalmente nos estados do Ceará e Rio Grande do Norte (COSTA *et al.*, 2002). A planta possui de 2-3 m de altura com muitas ramificações e as folhas de 2-3 cm de comprimento (SANTOS *et al.*, 2015). É uma espécie medicinal e aromática nativa da Caatinga que produz óleo essencial e é muito utilizada na medicina tradicional (FARIAS-JUNIOR *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2015). A partir do extrato da planta foi possível identificar atividade antioxidante, sendo considerada uma fonte natural de antioxidante e rica em compostos fenólicos (LIMA *et al.*, 2015).

Os componentes químicos presentes no óleo essencial de alecrim pimenta pode variar de acordo com a área de ocorrência das plantas. Os componentes majoritários do óleo essencial de *L. sidoides* de genótipos cultivados em Sergipe apresentaram os compostos majoritários timol e carvacrol (SANTOS *et al.*, 2015). O timol e o carvacrol são compostos fenólicos semelhantes, com a diferença na posição do grupo hidroxila no anel aromático sendo isômeros de posição (FIGUEIREDO *et al.*, 2017).

Os componentes 1,8 cineole, isoborneol e bornyl acetate foram encontrados no óleo essencial de *L. sidoides* na região de Goiás (MORAIS *et al.*, 2012). O timol e o-cymene são componentes majoritários encontrados no óleo essencial de alecrim pimenta cultivado em Juiz de Fora-MG (GOMIDE *et al.*, 2013).

As propriedades químicas do óleo essencial de *L. sidoides* podem ser utilizadas na produção de fármacos, repelentes, inseticidas, fungicidas e nematicidas. O óleo essencial de *L. sidoides* e *L. salviifolia* apresentaram efeito citotóxico em células tumorais do cólon, causando uma redução a partir do tratamento com óleo essencial (GOMIDE *et al.*, 2013). No controle de fitopatógenos, o óleo essencial de alecrim pimenta foi eficaz inibindo o crescimento e germinação de conídios de *Bipolaris maydis*, apresentando potencial no controle curativo e preventivo da doença (MOURÃO *et al.*, 2019). A inibição de *Rhizopus stolonifer* foi eficiente através do contato direto com o óleo de *L. sidoides*, causando um efeito significativo na parede celular e componentes intracelulares do patógeno (OLIVEIRA *et al.*, 2019).

2.5 Capim citronela (*Cymbopogon winterianus*)

O capim citronela (*C. winterianus*) é uma gramínea medicinal e aromática perene da família Poacea, cultivada em regiões tropicais e subtropicais da Ásia, África e América (YANG *et al.*, 2010). É uma espécie que apresenta elevada produção de óleo essencial dentre as principais espécies do gênero *Cymbopogon* com potencial de produção de óleo essencial para a indústria (SINGH *et al.*, 1996; BARUAH *et al.*, 2017).

A inúmeras aplicabilidades para o óleo essencial de *C. winterianus*, sendo utilizado como repelente, produtos de higiene, cosmético, perfumaria e possui também ação bactericida, fungicida e acaricida (LUTHRA *et al.*, 1991; BARUAH *et al.*, 2017; ALI, *et al.*, 2017; BLANK *et al.*, 2007). O óleo essencial de *C. winterianus* pode variar de acordo com o estágio de desenvolvimento das folhas, obtendo o máximo de rendimento aos 30 dias após a emergência, no entanto aos 20 dias o acúmulo é de 95% nas condições na qual o trabalho foi desenvolvido (LUTHRA *et al.*, 1991).

Os componentes majoritários encontrados no óleo essencial de *C. winterianus* são: citronellal, geraniol, acetato de citronelil, garanial, citronellol e neral (LUTHRA *et al.*, 1991; LORENZO *et al.*, 2000; BLANK *et al.*, 2007; SANTOS *et al.*, 2015). O óleo essencial apresenta forte atividade antifúngica no controle de *Candida* (TAWEECHAISUPAPONG *et al.*, 2012). A utilização de nano emulsão de citronela obteve resultados positivos contra *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii* (ALI *et al.*, 2017).

2.6 Controle alternativo

A utilização de produtos naturais no controle de pragas e doenças vem sendo uma alternativa eficiente com inúmeras qualidades e menor impacto ambiental, pois os resíduos gerados pelos produtos naturais são mínimos. Entretanto, o uso de fungicidas químicos tem sido a alternativa mais utilizada no controle de doenças, o mesmo tem gerado elevados impactos ambientais e principalmente a resistência de patógenos (SALES *et al.*, 2016). Os produtos químicos podem atingir os organismos não alvos e promover riscos à saúde humana, sendo assim é necessária à utilização de medidas alternativas no manejo de doenças de plantas (YOON *et al.*, 2013). No controle da fusariose, o uso de fungicida tem sido uma das alternativas no manejo da doença no campo, mais o resultado é insatisfatório quando as mudas introduzidas na área estão contaminadas (CAETANO; VENTURA; BALBINO, 2015).

Os extratos, tinturas e os óleos essenciais de diferentes plantas tem sido material de estudo para inúmeras pesquisas como método alternativo no manejo de doenças de plantas. O uso de tinturas-mãe de *Glycyrrhiza glabra*, *Myroxylon balsamum*, *Aloe vera* e *Allium sativum* foram eficientes no controle de *F. guttiforme* e *C. paradoxa* (SALES *et al.*, 2016); os óleos essenciais de *C. citratus* e *O. basilicum* apresentaram ação protetora contra espécies de *Phytophthora*, sendo esses óleos essenciais uma alternativa para formulação de novos produtos sintéticos a serem utilizados no manejo integrado de doenças (AMINI *et al.*, 2016).

Os produtos naturais apresentam inúmeros benefícios às plantas, ao meio ambiente e minimiza os riscos à saúde humana ao manejar esses produtos. Os mesmos apresentam rápida degradação, mais a vida útil é menor em relação aos produtos químicos (LENGAI *et al.*, 2020). No entanto, a formulação de produtos comerciais à base de óleos essenciais pode ser vantajosa e ecologicamente correta (PARK *et al.*, 2017).

A utilização de misturas de óleos essenciais pode ser uma alternativa eficaz no controle de fitopatógenos. A mistura de seis óleos essenciais de (cravo-da-índia, limão, canela, alecrim, lavanda e cedro), mostraram resultados promissores de uma mistura segura, natural e que protege os frutos de pêssego da doença da podridão pós-colheita (HASHIM *et al.*, 2019).

Faz-se necessário o desenvolvimento de mais estudos sobre o custo de produção, aplicabilidade, segurança e fitotoxicidade desses produtos como prováveis fungicidas (YOON *et al.*, 2013). Os estudos de novas plantas com potencial bioativo é essencial para desenvolver pesquisas agrônomicas através da domesticação de espécies exóticas, seleção de plantas, nutrição e outras práticas culturais, ressaltando também a importância de parcerias com

pesquisadores e formuladores de política que possam possibilitar a formulação de produtos naturais (LENGAI *et al.*, 2020).

3 METODOLOGIA

3.1 Emulsão de óleos essenciais

O emulsão a base dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *Cymbopogon winterianus* foi desenvolvido pela Universidade Federal do Ceará. O mesmo foi disponibilizado para ser utilizado no trabalho para comprovar ação fungicida.

3.2 Estirpe patogênica

O isolado de *Fusarium guttiforme* (UFCM-0466), foi obtido da Coleção Micológica da UFC (UFCM), Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE. O fungo foi isolado de fruto de abacaxi com sintomas de fusariose, a coleta foi realizada em Pombos (Serras das Russas)-PE (TSUJI, 2012).

3.3 Atividade antifúngica do emulsão de óleos de alecrim pimenta e capim citronela

Os testes *in vitro* foram realizados de acordo com a metodologia de Vilaplana *et al.* (2018), com modificações para avaliar o efeito inibitório do emulsão a base de óleo essencial no crescimento do isolado de *Fusarium guttiforme* (UFCM-0466). Para a determinação do efeito de contato do emulsão, foi utilizado em meio BDA, cinco concentrações do emulsão (CE) (250, 500, 750, 1000 e 1250 $\mu\text{L.L}^{-1}$), uma testemunha -T (meio contendo apenas inóculo) e o controle positivo-CP [meio contendo FOLICUR® 200 EC (1000 $\mu\text{L.L}^{-1}$) e o inóculo]. Após o meio solidificado nas placas de Petri (90 x 15mm), adicionou-se um disco de hifa de 6 mm de diâmetro do isolado com 7 dias de cultivo. Para cada tratamento utilizou-se 7 placas em um delineamento inteiramente casualizado. As mesmas foram incubadas em B.O.D a 25 ± 2 °C com fotoperíodo de 12 h e as avaliações de crescimento micelial ocorreram a partir da medição do diâmetro da colônia a cada 3 dias durante 15 dias. As médias dos tratamentos serviram para obter a porcentagem de inibição do crescimento micelial a partir da fórmula, $\text{ICM (\%)} = [(T-CE)/T] \times 100$, onde o T (Testemunha) e CE (Concentrações do emulsão). O crescimento zero foi observado como efeito fungicida e nos tratamentos que apresentaram crescimento após alguns dias de avaliação foi observado ação fungistática. O experimento foi realizado em duplicata.

3.4 Efeito fungitóxico do emulsionado de óleos de alecrim pimenta e capim citronela na germinação

A inibição na germinação de conídios de *F. guttiforme* (UFCM-0466), foi realizada com a identificação das estruturas do patógeno desenvolvida em meio de cultura BDA mediante a ação das concentrações do emulsionado. Foi utilizado cinco concentrações do emulsionado-CE (250, 500, 750, 1000 e 1250 $\mu\text{L.L}^{-1}$), uma testemunha -T (meio contendo apenas inóculo) e o controle positivo (CP) [meio contendo FOLICUR[®] 200 EC (1000 $\mu\text{L.L}^{-1}$)] e o inóculo), todos os tratamentos foram adicionados ao meio de cultura BDA. Em cada tratamento utilizou-se duas placas, sendo divididas em quatro quadrantes totalizando 8 repetições por tratamento. Foi preparado uma suspensão de conídios adicionando 15 mL de água esterilizada e posteriormente foi realizada a filtragem de hifa utilizando gaze, a concentração de esporos foi determinada com o auxílio de uma câmara de Neubauer e ajustada a 10^6 conídios.mL⁻¹. As placas de Petri (90 x 15 mm) com os tratamentos, receberam 100 μL da suspensão de conídios e foram incubadas em B.O.D a 25 ± 2 °C com fotoperíodo de 12h (ANDRADE; VIEIRA, 2016; BASAK, 2018). Foram realizadas duas avaliações: 6 h e 24 h após a inoculação das placas. Utilizou-se microscópio de luz no aumento de 10x, para avaliar 100 conídios germinados de quatro pontos de cada placa (SILVA; BASTOS, 2007). O experimento foi realizado em duplicata. Para obtenção do percentual de germinação foi utilizada a equação $G (\%) = [(N^\circ \text{conídios germinados} / N^\circ \text{total de conídios}) \times 100]$ (BASAK, 2018).

3.5 Efeito do emulsionado de óleos essenciais nas estruturas fúngicas via microscopia eletrônica de varredura-MEV

Na microscopia eletrônica de varredura foram avaliadas placas com nove tratamentos, sendo sete concentrações do emulsionado (CE) (250, 500, 750, 1000, 1250, 1500 e 2000 μL), uma testemunha -T (meio contendo apenas inóculo) e o controle positivo (CP) [meio contendo FOLICUR[®] 200 EC (1000 $\mu\text{L.L}^{-1}$) e o inóculo], foram retirados segmentos de 10 mm das placas com o crescimento fúngico de 7 dias após a incubação em B.O.D a 25 ± 2 °C com fotoperíodo de 12h (AVANÇO *et al.*, 2017).

As amostras foram fixadas em solução Karnovsky, diluída em solução tampão cacodilato 0,2M, pH 7,2, por 48h, acondicionadas em geladeira. A seguir, foram lavadas com 3 trocas de tampão cacodilato de 10 minutos cada, pós-fixadas em tetróxido de ósmio (1%) por 1 hora, lavadas em água destilada e desidratadas em soluções de etanol de concentração crescente: (20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90%), por 15 minutos cada e em solução 100% de

álcool, por 3 vezes, de 15 minutos cada. As amostras foram então, secas em aparelho de secagem ao ponto crítico EMS 850, montadas em *stubs* e recobertas com platina em metalizadora. Por fim, foram levadas ao MEV TESCAN, modelo VEGA 3 SBU, sob uma voltagem de aceleração de 15 Kv, para visualização e obtenção das imagens (BOZZOLA; RUSSELL, 1999).

3.6 Controle in vivo no desenvolvimento do fungo em abacaxis inoculados artificialmente

O ensaio in vivo em frutos seguiu a metodologia de Bezerra *et al.*, (2019) com modificações. Utilizou-se frutos de abacaxi da cultivar Pérola, suscetível à doença, os frutos foram selecionados de acordo com o estágio 1 de maturação (os mesmos devem ter na parte central a coloração verde, passando a verde bem escuro na periferia e a marrom escuro nos sulcos divisórios das inflorescências); os frutos foram desinfestados superficialmente, sendo mergulhados em hipoclorito de sódio (água sanitária comercial) a 1,5%, por 3 minutos, em seguida lavados com água corrente e colocados em bancada para secagem em temperatura ambiente.

O preparo da suspensão de conídios e a inoculação dos frutos seguiu a metodologia de Vilaplana; Revelo; Valencia-Chamorro (2018) com modificações. A concentração da suspensão de conídios de *F. guttiforme* (UFCM-0466) foi determinada com o auxílio de uma câmara de Neubauer e ajustando a 10^6 conídios.mL⁻¹. Após a desinfestação dos frutos, foram realizadas três perfurações: a primeira na base da coroa, a segunda na zona equatorial e a terceira na base dos frutos, sendo utilizado um furador de rolha de 3x3 mm para fazer os orifícios nos frutos com uma profundidade de 10 mm.

Cada perfuração recebeu 100 µL da suspensão de conídios, deixando secar por 2 h (ZHANG *et al.*, 2007). Passadas as 2 h os frutos receberam os tratamentos com as concentrações do emulsionado (CE) (750, 1000, 1250, 1500 e 2000 µL), sendo pulverizado em toda a superfície dos frutos inclusive nos orifícios. Na testemunha foi pulverizado apenas água e controle com fungicida recebeu a solução com fungicida FOLICUR® 200 EC (1000 µL.L⁻¹), as cinco concentrações e os outros dois tratamentos totalizam sete tratamentos, e para cada tratamento foram utilizados 4 frutos. O critério de escolha das CE, foi a partir dos testes in vitro, escolhendo a maior concentração do teste in vitro e determinando duas concentrações a baixo e a cima da concentração de 1250 µL.

Após a inoculação e a aplicação dos tratamentos os frutos foram colocados em câmara úmida por 48 h. Os frutos ficaram em bancadas durante 10 dias até a avaliação da

infecção; os mesmos foram cortados ao meio na direção dos pontos de inoculação. A avaliação foi realizada nos pontos de inoculação com as medidas de largura e comprimento da lesão formada pelo fungo em todos os tratamentos (BEZERRA *et al.*, 2019). O experimento foi repetido duas vezes.

3.7 Análise estatística

Os resultados *in vitro* dos parâmetros: percentual de inibição de crescimento micelial e inibição da germinação, foram submetidos a uma análise de regressão para verificar a relação funcional das concentrações do emulsionado de óleos essenciais e o tempo de eficiência do emulsionado. Foi usado o programa R e o pacote ExpDes.pt para obter as análises dos dados.

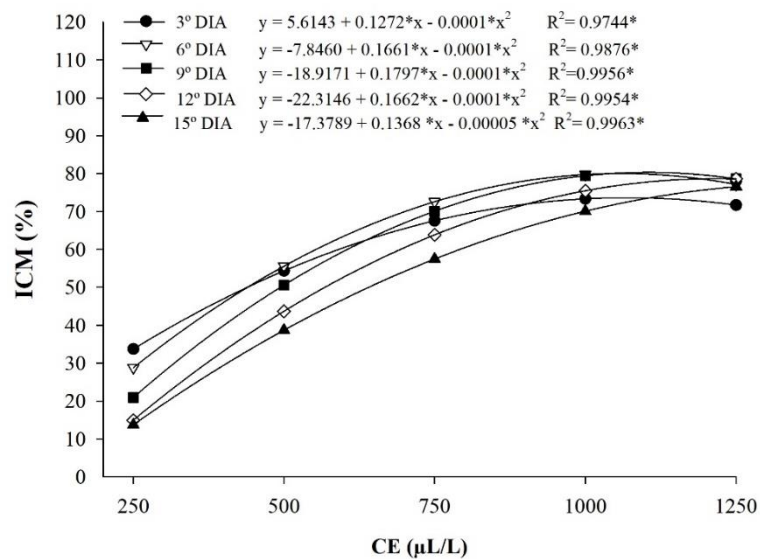
Os resultados *in vivo* dos parâmetros, comprimento e largura da lesão de *F. guttiforme*, foram avaliados em blocos, sendo os três pontos de inoculações três blocos distintos. Pois os pontos de inoculações estão localizados em pontos de diferentes fases de maturação do fruto. Os dados foram submetidos a análise de variância pelo teste F, ao nível de 5% de significância. Foi aplicado o teste de Tukey, considerando o nível de ($p < 0,05$), utilizado o programa R e o pacote ExpDes.pt para obter as análises dos dados. As plotagens dos gráficos foram feitas no programa Sigma Plot 12.5.

4 RESULTADOS

No gráfico 1, as concentrações do emulsionado influenciaram significativamente ($p < 0,05$) na inibição de crescimento micelial de *F. guttiforme* *in vitro*, nos períodos de avaliação de 3, 6, 9, 12 e 15 dias. Aos 3 dias de incubação, foi observado que a medida que se aumenta a concentração do emulsionado tem-se uma maior inibição do crescimento fúngico, obtendo (73,52%) de inibição na concentração de $1250 \mu\text{L.L}^{-1}$ e (32,2; 56,8; 68,6 e 69,3%) para as concentrações de (250, 500, 750 e $1000 \mu\text{L.L}^{-1}$), respectivamente. Aos 6 dias (27,6; 57,2; 74,1; 76,0 e 78,7%) e aos 9 dias (20,4; 50,8; 71,8; 76,8 e 79,6%), os maiores valores de inibição foram observados nas concentrações de (750, 1000, $1250 \mu\text{L}$). E nas últimas duas avaliações, aos 12 dias (16,0; 40,8; 65,7; 75,7 e 78,1%) e aos 15 dias (14,7; 36,4; 57,9; 71,6 e 75,7%) os maiores valores de inibição acima de 70%, foram encontrados nas concentrações de (1000 e $1250 \mu\text{L}$). De acordo com as equações de regressão ajustada no modelo polinomial quadrática, foram observadas as seguintes taxas de ICM aos 3, 6, 9, 12 e 15 dias (0,1272; 0,1661; 0,1797; 0,1662 e 0,1368%) respectivamente, representando uma taxa de crescimento na inibição com o aumento das concentrações.

Os resultados destacam que as duas últimas concentrações (1000 e 1250 μ L) testadas, foram eficientes na inibição do crescimento de *F. guttiforme*, ressaltando a eficácia do emulsionado de óleos essenciais de alecrim pimenta e capim citronela no controle in vitro.

Gráfico 1 – Inibição de crescimento micelial (%) de *F. guttiforme* em diferentes períodos, submetidos a diferentes concentrações do emulsionado de óleos essenciais de *L. sidoides* e *C. winterianus*.



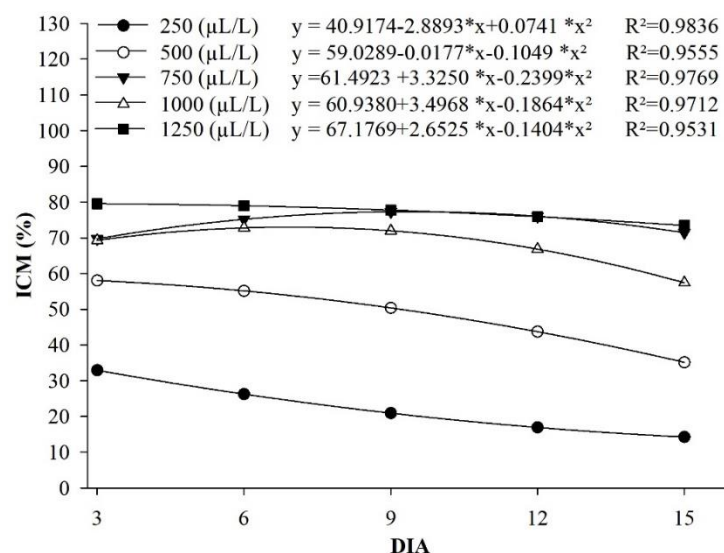
Em outros estudos, é possível identificar a eficiência de óleos essenciais na inibição de crescimento micelial. Segundo Avanço *et al.* (2017), a inibição no desenvolvimento de *F. verticillioides* pelo óleo essencial de *C. longa*, foi explicada de uma maneira dependente da dose. As concentrações altas e baixas, podem exibir atividades de controle significativamente diferentes, no estudo foi possível obter 72% de inibição de crescimento micelial de *F. verticillioides* com uma concentração menor (600 μ g.mL⁻¹) (BOMFIM *et al.*, 2015). Em uma concentração de (2 mL.L⁻¹) de uma mistura de seis óleos essenciais, foi obtido um resultado de 100% de inibição do crescimento micelial de *A. alternata* e *G.candidum*, e na concentração mais baixa (0,5 mL.L⁻¹) reduziu-se a taxa de *G. candidum* para 16,5% (HASHIM *et al.*, 2019).

No gráfico 2 o tempo de avaliação influenciou significativamente ($p < 0,05$) na inibição do crescimento micelial de *F. guttiforme* nas concentrações testadas. O tempo pode interferir diretamente na eficiência do emulsionado no controle fúngico. A concentração de 250 μ L.L⁻¹ foi a que apresentou menor inibição no crescimento micelial aos 3, 6, 9, 12 e 15 dias (32,2; 27,6; 20,4; 16,0 e 14,7%) respectivamente. Na dose de 500 μ L.L⁻¹ foi observado

que aos 9 dias (50,8%), a inibição se diferiu dos demais períodos avaliados, na qual não houve diferença significativa nos dois primeiros períodos avaliados 3 e 6 dias (56,8; 57,2%) e para as duas últimas avaliações 12 e 15 dias (40,8 e 36,4%). Na dose de 750 $\mu\text{L.L}^{-1}$ aos 3 e 15 dias (68,6 e 57,9%) obtiveram diferenças significativas em relação as avaliações entre esses dois períodos que não diferiram entre si (74,1; 71,8 e 65,7%). Na dose de 1000 $\mu\text{L.L}^{-1}$ (69,38; 76,08; 76,89; 75,74 e 71,67) e 1250 $\mu\text{L.L}^{-1}$ (73,52; 78,75; 79,62; 78,13 e 73,52%), os resultados mostram que essas duas concentrações testadas obtiveram inibições acima de 70% e mantiveram essa inibição durante o período de avaliação, resultando na eficiência desse emulsionado de óleos essenciais de alecrim pimenta e capim citronela durante o período de tempo avaliado no estudo.

De acordo com as equações de regressão ajustada, foram observadas as seguintes taxas de decréscimo da inibição de crescimento nas concentrações de (250 e 500 $\mu\text{L.L}^{-1}$) (2,8893 e 0,0177%) respectivamente. E para as demais concentrações testadas (750, 1000 e 1250 $\mu\text{L.L}^{-1}$) foi observado uma taxa de crescimento na inibição (3,3250; 3,4968 e 2,6525 %) ao longo dos dias de avaliação.

Gráfico 2 – Inibição de crescimento micelial (%) de *F. guttiforme* submetidos a diferentes concentrações do emulsionado de óleos essenciais de *L. sidoides* e *C. winterianus*, avaliados durante 15 dias.

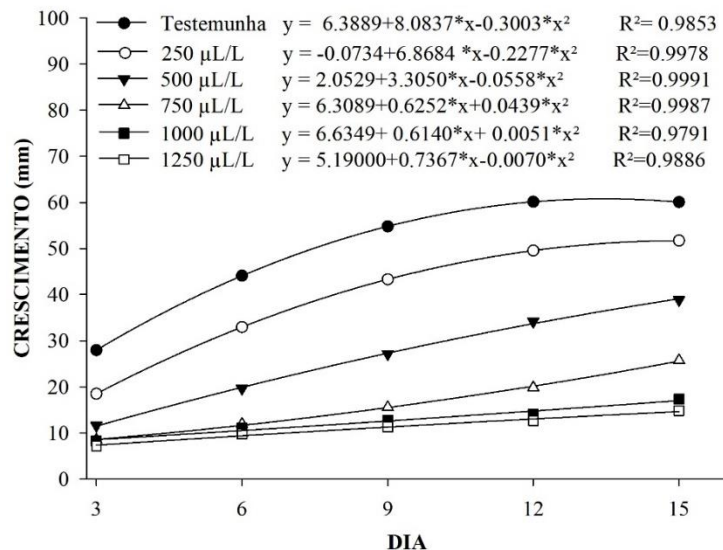


O tempo é um fator importante na avaliação da eficiência de um produto, pois é através de diferentes períodos de avaliação que se pode tomar conclusões da eficiência do mesmo na inibição de crescimento micelial. Os óleos essenciais de *Mentha piperita* L. e

Lavandula angustifolia Mill. utilizados no controle fúngico, após 6 dias a sua eficácia diminuiu (VILAPLANA *et al.* 2018). O óleo essencial de capim-citronela inibiu 100% o crescimento fúngico aos 2 e 4 dias (SEIXAS *et al.*, 2011). O óleo essencial de *L. sidoides* teve efeito fungitóxico, inibindo o crescimento micelial até os dois primeiros dias de incubação nas concentrações de 2 e 4 % (MOURÃO *et al.*, 2019).

Na avaliação de crescimento micelial (Gráfico 3) foi observado os melhores resultados na concentração de 1250 $\mu\text{L.L}^{-1}$ que apresentou uma taxa de crescimento de (0,7367mm), comparado a testemunha que apresentou uma taxa de (8,0837mm). No tratamento com fungicida foi controlado 100%. A inibição do crescimento micelial está relacionado ao efeito fungicida do emulsionado, atuando diretamente nas estruturas do patógeno.

Gráfico 3 – Crescimento micelial (mm) de *F. guttiforme* submetidos a diferentes concentrações do emulsionado de óleos essenciais de *L. sidoides* e *C. winterianus*, avaliados ao longo do tempo.

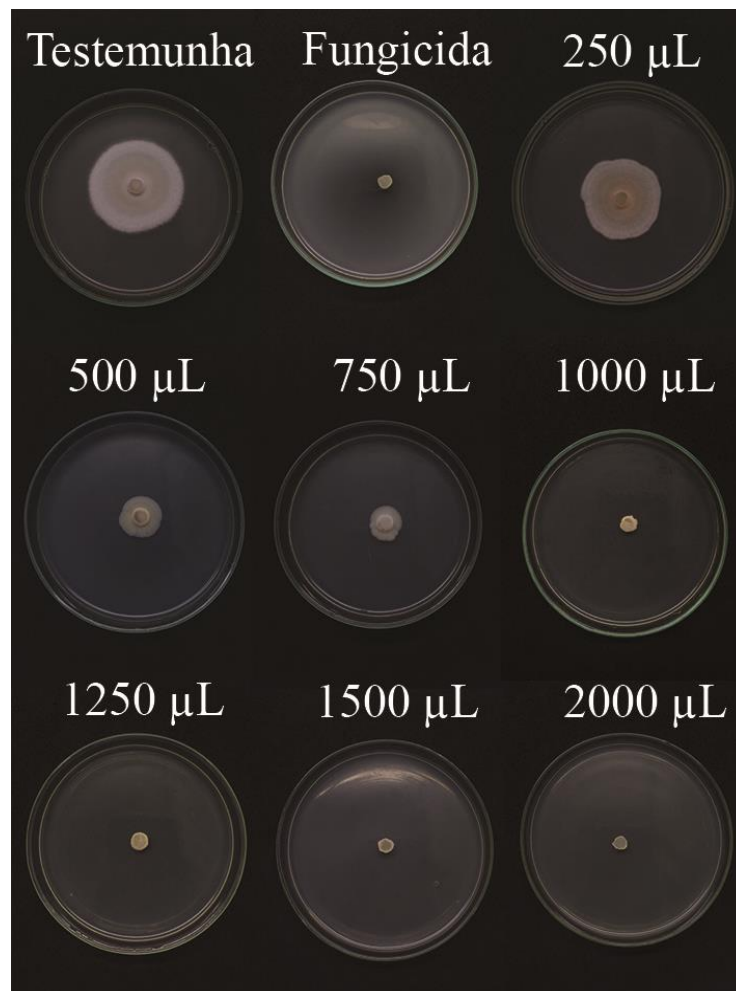


O óleo essencial de *C. winterianus* mostrou excelente atividade antifúngica, inibindo o crescimento de *R. solani* e *S. rolfsii* (ALI *et al.*, 2017). A variação no crescimento fúngico pode estar relacionado diretamente à ação dos componentes presente no óleo essencial (BOMFIM *et al.*, 2015). O óleo de *L. sidoides* apresentou maior atividade antifúngica quando utilizado individualmente e aumentou a eficiência antifúngica das misturas que continham o mesmo em sua composição (OLIVEIRA *et al.*, 2019). No estudo

foi possível avaliar a eficiência desses dois óleos de *C. winterianus* e *L. sidoides* em um emulsionado que demonstrou atividade antifúngica no controle de *F. guttiforme*.

A inibição pode ser visualizada na (Figura 2) com o crescimento in vitro do *F. guttiforme* submetidos as concentrações testadas in vitro e in vivo. A imagem mostra um crescimento fúngico de 7 dias, sendo a testemunha com o maior crescimento fúngico em relação aos demais tratamentos; no tratamento com fungicida foi possível ter um controle de 100%. Nas concentrações do emulsionado, a concentração de (250 $\mu\text{L.L}^{-1}$) teve a menor inibição, e as concentrações de (1000, 1250, 1500 e 2000 $\mu\text{L.L}^{-1}$) tiveram resultados excelentes.

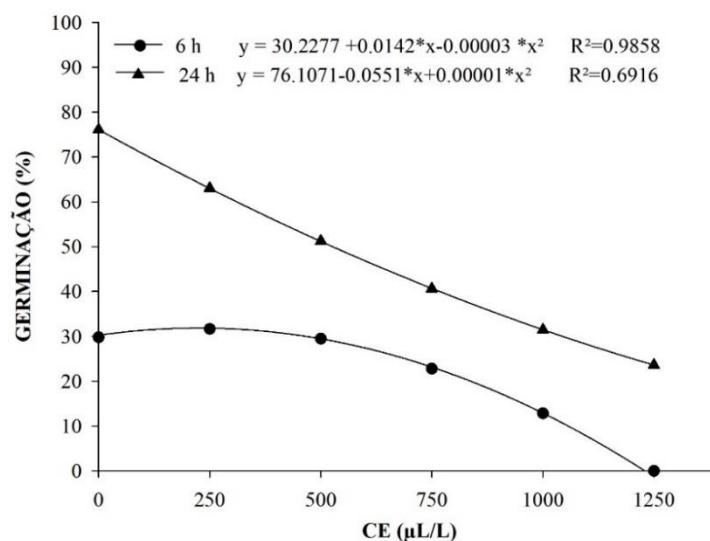
Figura 2 – Crescimento micelial in vitro de *F. guttiforme* submetidos a diferentes concentrações do emulsionado de óleos essenciais de *L. sidoides* e *C. winterianus*, uma testemunha e um tratamento com fungicida.



Os óleos essenciais de alecrim pimenta e citronela apresentam componentes bioativos no controle de fitopatógenos. O óleo essencial de *L. sidoides* é rico em timol (50-70%) e apresenta atividade antifúngica e antibacteriana comprovada (PINTO *et al.*, 2016). Alguns agentes antifúngicos atuam diretamente paralisando a biossíntese de ergosterol, por essa razão ocorre a perda da integridade da membrana e a inibição do crescimento celular (BOMFIM *et al.*, 2015). Os terpenos que estão presentes nos óleos essenciais são moléculas lipofílicas e essa característica poderia explicar os danos à parede celular (AVANÇO *et al.*, 2017). A inibição do crescimento fúngico é devido ao sinergismo existente entre os compostos presente no óleo essencial de capim citronela (SEIXAS *et al.*, 2011).

A inibição da germinação de conídios de *F. guttiforme* foi eficiente quando submetida às concentrações do emulsionado de óleos essenciais de *L. sidoides* e *C. winterianus* (Gráfico 4). As concentrações influenciaram significativamente ($p < 0,05$) na germinação comparadas a testemunha. A germinação após 6 horas de incubação, foi observado maior inibição na concentração de ($1250 \mu\text{L.L}^{-1}$) que inibiu 100% em relação a testemunha que não recebeu nenhuma dose do emulsionado. Após 24 horas de incubação a concentração de ($1250 \mu\text{L.L}^{-1}$) manteve o maior índice de inibição da germinação de conídios em relação a testemunha e as demais concentrações testadas. Este resultado confirma a eficiência dos componentes presente nos óleos de alecrim pimenta e citronela no controle da germinação de conídios, atuando diretamente nas células do patógeno.

Gráfico 4 – Inibição da germinação de conídios de *F. guttiforme* submetidos a diferentes concentrações do emulsionado de óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *Cymbopogon winterianus*.

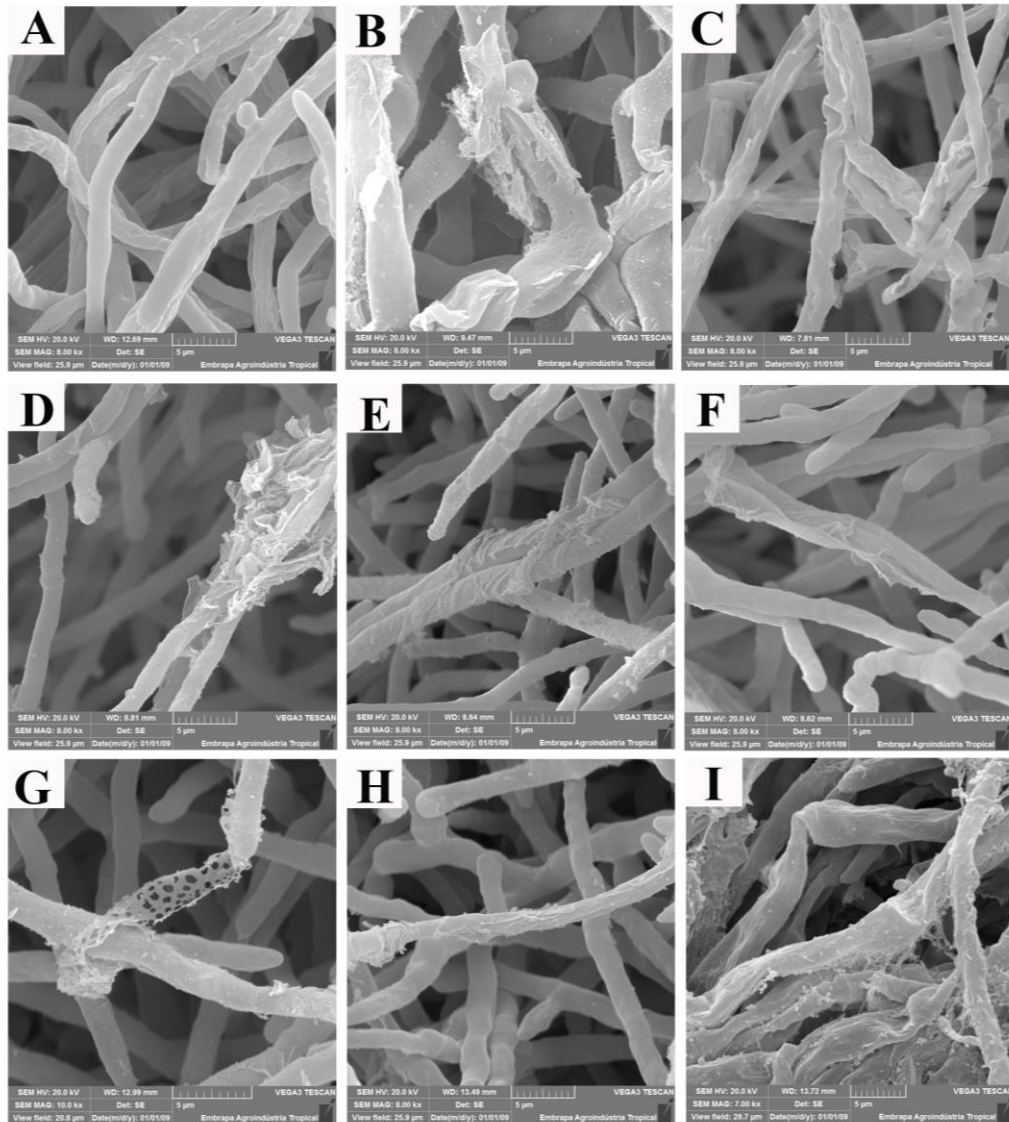


A inibição da germinação de *Bipolaris maydis* foi de acordo com o aumento da concentração do óleo essencial de *Lippia sidoides*. Nas concentrações de (0,5 e 1%) houve (90 e 100%) de inibição respectivamente, após 14 horas que o controle atingiu 100% da germinação de conídios (MOURÃO *et al.*, 2019). O óleo essencial de capim-limão e seus constituintes, foram eficientes na inibição da formação do tubo germinativo de *C. albicans* e no seu comprimento (TAWEECHAI SUPAPONG *et al.*, 2012).

Através da avaliação via MEV, foi possível confirmar a ação fungicida das concentrações dos emulsionados de óleos essenciais de *L. sidoides* e *C. winterianus* nas estruturas fúngicas de *F. guttiforme*, sendo observada a ação efetiva das concentrações através do teste *in vitro*. Na figura 3 (A) são mostradas as estruturas da hifa sem danos com a parede celular íntegra com formato cilíndrico e formação de conidióforo. Entretanto na (Figura 3 B), que recebeu o tratamento com fungicida é possível visualizar danos nas hifas, havendo uma desestruturação na parede celular fúngica, apresentando um rompimento das estruturas. Na (Figura 3 C) que recebeu a CE de 250 μL , observou-se achatamento das hifas e rompimento da parede celular. Nas concentrações de (500, 750, 1000, 1250, 1500 μL) (Figura 3 D, E, F e G) respectivamente, apresentaram hifas completamente dilaceradas, uma camada superficial danificada e apresentando um descolamento de uma fina camada. Na maior concentração de 2000 μL (Figura 3 I) as estruturas aparecem esmagadas e completamente danificadas pela ação do emulsionado.

Na imagem via MEV (Figura 3) foi possível visualizar os danos causados pela ação das CE de *L. sidoides* e *C. winterianus* nas estruturas do *F. guttiforme*, e avaliar ação fungitóxica destes óleos na parede celular fúngica e explicar a inibição do crescimento fúngico a partir das concentrações avaliadas no estudo.

Figura 3 – Microscopia eletrônica de varredura de *F. guttiforme* tratadas com emulsão de óleos de essenciais de *L. sidoides* e *C. winterianus* C, D, E, F, G, H e I (250, 500, 750, 1000, 1250, 1500 e 2000 μ L) respectivamente. Testemunha (A) e um tratamento com fungicida (B).



O óleo essencial de *L. sidoides* teve efeito fungitóxico nas concentrações testadas no controle de *Bipolaris maydis* (MOURÃO *et al.*, 2019). Os danos a parede celular fúngica confirmam a fungitoxicidade da mistura de óleos essenciais de (cravo-da-índia, limão, canela, alecrim, lavanda e cedro) e seus constituintes, as hifas sofreram plasmólise e rupturas, comprovando a perda de sua integridade (HASHIM *et al.*, 2019).

A exposição ao óleo essencial de *L. sidoides* desencadeou alterações em hifas de *R. stolonifer*, causando distorções e destruição de hifas (OLIVEIRA *et al.*, 2019). Os componentes carvacrol e eugenol realizam sua ação bloqueando o ergosterol na membrana

celular fúngica (HASHIM *et al.*, 2019). O carvacrol e o eugenol tem ação direta na parede celular fúngica, comprometendo a integridade da mesma (ZHOU *et al.*, 2017).

Os óleos essenciais apresentam em sua composição, componentes bioativos que atuam de forma eficaz no controle de inúmeros patógenos. O uso de óleos essenciais no controle fitossanitário, pode ser considerado um método eficaz e apresenta baixo impacto ambiental no controle de fitopatógenos (SEIXAS *et al.*, 2011).

Os resultados do teste *in vivo*, não foram significativos para nenhum dos tratamentos aplicados aos frutos (Gráfico 5 e 6). A partir dos resultados foi possível concluir, que mesmo adotando duas concentrações do emulsionado acima das concentrações testadas *in vitro* e que apresentaram bons resultados, não foi possível controlar o tamanho das lesões (comprimento e largura). Entretanto até mesmo o tratamento com fungicida não foi eficiente no controle do tamanho das lesões, sendo que no tratamento *in vitro* a inibição foi de 100% para o tratamento que utilizou fungicida.

Gráfico 5 – Análise do comprimento (mm) de lesões de *F. guttiforme* em frutos de abacaxi, submetidos a concentrações do emulsionado de óleos essenciais de *L. sidoides* e *C. winterianus*.

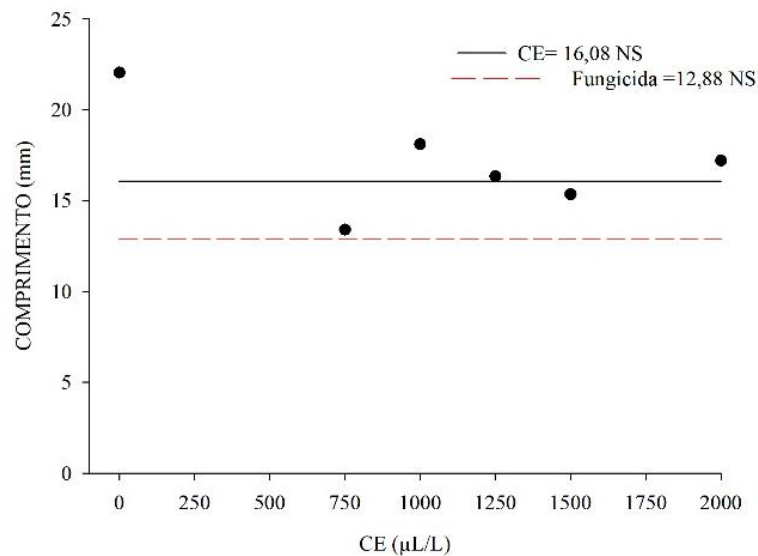
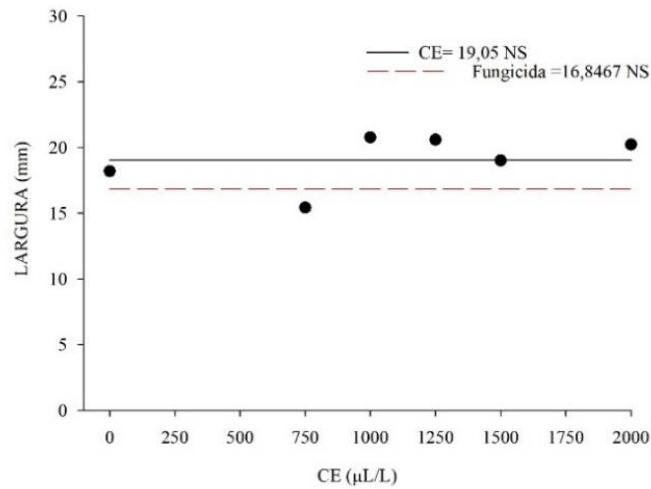
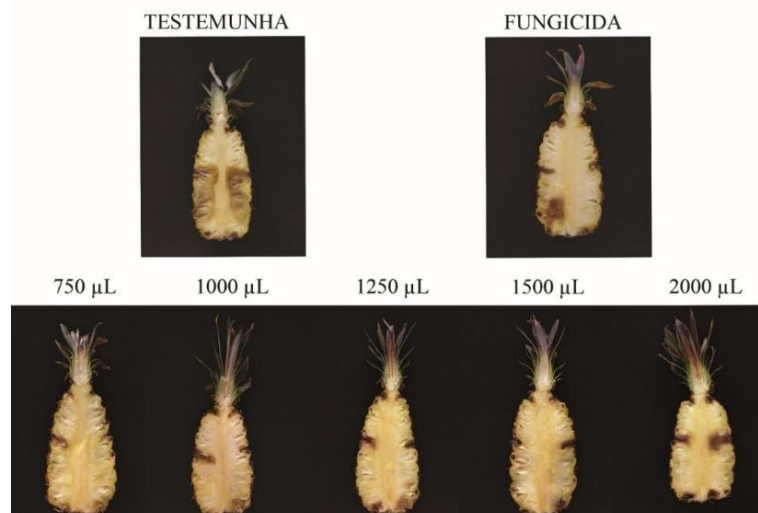


Gráfico 6 – Análise da largura (mm) de lesões de *F. guttiforme* em frutos de abacaxi, submetidos a concentrações do emulsionado de óleos essenciais de *L. sidoides* e *C. winterianus*.



Na figura 4 é possível visualizar os danos causados pelo *F. guttiforme* inoculados artificialmente nos frutos de abacaxi. Neste caso as lesões estão presentes em todos os pontos de inoculação e em todos os tratamentos, não havendo diferenças significativas entre as concentrações do emulsionado e a testemunha e o tratamento com fungicida e a testemunha. Demonstrando que as concentrações do emulsionado de óleos essenciais aplicadas no estudo quanto a concentração do fungicida não foram eficazes na inibição dos parâmetros comprimento e largura das lesões.

Figura 4 – Controle de *F. guttiforme* em frutos de abacaxi inoculados artificialmente, submetidos as concentrações do emulsionado de óleos de essenciais de *L. sidoides* e *C. winterianus* (750, 1000, 1250, 1500 e 2000 µL) uma testemunha e um tratamento com fungicida.



Os parâmetros comprimento e largura de lesões de *F. guttiforme* em frutos de abacaxi, pode ocorrer variações devido alguns fatores que devem ser considerados como temperatura, umidade, fatores nutricionais e estagio de maturação dos frutos (BEZERRA *et al.*, 2019). No período de 7 dias, frutos de abacaxi tratados com $1000 \mu\text{L.L}^{-1}$ de óleo de tomilho (50,1%) foi significativamente maior ($p < 0,05$) comparado ao tratamento com procloraz (32,7%), evidenciando a redução da doença durante a vida útil do fruto (VILAPLANA *et al.* 2018). Os óleos essenciais *T. vulgaris*, *A. persica*, *R. officinalis* e *S. mirzayanii*, apresentaram condições favoráveis no controle de *A. niger* em frutas de manga no pós-colheita (JAVADPOUR *et al.*, 2018). Em muitos estudos o uso de óleos essenciais tem trazido resultados satisfatórios. Entretanto a agressividade do *F. guttiforme* e as variações nos frutos como, fatores nutricionais e estagio de maturação podem ter levado a menor inibição da fusariose nos frutos utilizando o emulsionado como também o controle com fungicida que teve um controle de 100% in vitro.

No estudo faz-se necessário outras formas de aplicações mais eficiente no controle do patógeno in vivo, para que a estrutura do patógeno entre em contato direto com as substancias dos óleos essenciais presentes no emulsionado, assim como no teste in vitro que apresentou resultados satisfatório na inibição de crescimento micelial e na germinação de conídios.

5 CONCLUSÃO

Os emulsionados de óleos essenciais de alecrim pimenta e capim citronela, apresentam ação fungicida no controle in vitro de *F. guttiforme*, a concentração de 1250 µL do emulsionado foi eficiente na inibição do crescimento micelial. Os componentes bioativo presentes no emulsionado, desencadeou ação fungitóxica nas células do patógeno verificando via MEV os danos causados a parede celular fúngica.

Neste estudo as diferentes concentrações do emulsionado testado in vivo em frutos de abacaxi, não apresentaram diferenças significativas nos tratamentos em relação a testemunha. Resultando em uma baixa eficiência do emulsionado no controle in vivo.

REFERÊNCIAS

- ALI, E. O. M.; SHAKIL, N. A.; RANA, V. S.; SARKAR, D. J.; MAJUMDER, S.; KAUSHIK, P.; SINGH, B. B.; KUMAR, J. Antifungal activity of nano emulsions of neem and citronella oils against phytopathogenic fungi, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*. **Industrial Crops and Products**, v.108, p.379-387, dec. 2017. Disponível em: <http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.061>. Acesso em: 23 jan. 2020.
- 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 Medicinai**s, v.18, n.1, p.367-372, 2016.
- AMINI, J.; FARHANG, V.; JAVADI, T; NAZEMI, J. Antifungal effect of plant essential oils on controlling *Phytophthora* species. **The Plant Pathology Journal**, v.32, p.16-24, feb. 2016.
- AVANÇO, G. B.; FERREIRA, F. D.; BOMFIM, N. S.; SANTOS, P. A. DE S. R. DOS; PERALTA, R. M.; BRUGNARI, T.; MALLMANN, C. A.; FILHO, B. A. DE A.; MIKCHA, J. M. G.; MACHINSKI JR., M. *Curcuma longa* L. essential oil composition, antioxidant effect, and effect on *Fusarium verticillioides* and fumonisin production. **Food Control** v.73, p.806-813, 2017.
- BARBOSA, R. F. DA S.; YUDICE, E. D. C.; MITRA, S. K.; ROSA, D. DOS S. Characterization of Rosewood and Cinnamon Cassia essential oil polymeric capsules: Stability, loading efficiency, release rate and antimicrobial properties. **Food Control**, v. 121, mar. 2021.
- BARUAH, J.; GOGOI, B.; DAS, K.; AHMED, N.M.; SARMAH, D.K.; LAL, M.; BHAI, B.S. Genetic diversity study amongst *Cymbopogon* species from NE-India using RAPD and ISSR markers. **Industrial Crops and Products**, v.95, p.235-243, jan. 2017.
- BASAK, S. Modeling the effect of betel leaf essential oil on germination time of *Aspergillus flavus* and *Penicillium expansum* spore population. **Food Science and Technology**, v.95, p.361-366, may. 2018.
- BEZERRA, G. DE A.; MUSSI-DIAS, V.; SANTOS, P. H. D. DOS.; AREDES, F. A. S.; SILVEIRA, S. F. DA. Identificação e seleção de espécies de *Trichoderma* spp. endofíticos de bromélias de restingas como agentes de biocontrole da fusariose em frutos de abacaxi. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 45, n. 2, p.172-178, abr-jun. 2019.
- BLANK, A. F.; COSTA, A. G.; ARRIGONI-BLANK, M. DE F; CAVALCANTI, S. C. H.; ALVES, P. B.; INNECCO, R.; EHLERT, P. A. D.; SOUSA, I. F. DE. Influence of season, harvest time and drying on Java citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) volatile oil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.17, n.4, p.557-564, oct. 2007.
- BOMFIM, N. DA S.; NAKASSUGI, L. P.; OLIVEIRA, J. F. P.; KOHIYAMA, C. Y.; MOSSINI, S. A. G.; GRESPAN, R.; NERILO, S. B.; MALLMANN, C. A.; FILHO, B. A. A.; MACHINSKI JR, M. Antifungal activity and inhibition of fumonisin production by *Rosmarinus officinalis* L. essential oil in *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg. **Food Chemistry**, v.166, p.330–336, jan. 2015.

BOZZOLA, J. J.; RUSSELL, L. D. **Electron Microscopy: Principles and Techniques for Biologists**. Jones & Bartlett Learning, 670 p, 1999.

CAETANO, L. C. S.; VENTURA, J. A.; BALBINO, J. M. DE S. Comportamento de genótipos de abacaxizeiro resistentes à fusariose em comparação a cultivares comerciais suscetíveis. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 2, p. 404- 409, Jun. 2015.

COLLINS, J.L. **The pineapple, botany, utilization, cultivation**. Leonard Hill Ltd, London, 294 p, 1960.

COSTA, S. M. O.; LEMOS, T. L. G.; PESSOA, O. D. L.; ASSUNÇÃO, J. C. C.; BRAZ-FILHO, R. Constituintes químicos de *Lippia sidoides* (Cham.) Verbenaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 66-67, 2002.

CRESTANI, M.; BARBIERI, R. L.; HAWERROTH, F. J.; CARVALHO, F. I. I.; OLIVEIRA, A. C. Das Américas para o mundo - origem, domesticação e dispersão do abacaxizeiro. **Ciência Rural**, v.40, n.6, jun., 2010.

DING, P.; SYAZWANI, S. Physicochemical quality, antioxidant compounds and activity of MD-2 pineapple fruit at five ripening stages. **International Food Research Journal**, v. 23, p. 549-555, 2016.

DIKBAS, N.; KOTAN, R.; DADASOGLU, F.; SAHIN, F. Control of *Aspergillus flavus* with essential oil and methanol extract of *Satureja hortensis*. **International Journal of Food Microbiology**, v.124, p.179–182, may. 2008.

FARIAS-JUNIOR, P. A.; RIOS, M. C.; MOURA, T. A.; ALMEIDA, R. P.; ALVES, P. B.; BLANK, A. F.; FERNANDES, R. P. M.; SCHER, R. Leishmanicidal activity of carvacrolrich essential oil from *Lippia sidoides* Cham. **Biological Research**, v.45, p.399-402, 2012.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Production**. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QC/visualiek>. Acesso em: 10 jun. 2021.

FIGUEIREDO, M. B.; GOMES, G. A.; SANTANGELO, J. M.; PONTES, E. G.; AZAMBUJA, P.; GARCIA, E. S.; CARVALHO, M. G. DE. Lethal and sublethal effects of essential oil of *Lippia sidoides* (Verbenaceae) and monoterpenes on Chagas' disease vector *Rhodnius prolixus*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.112, p.63-69, jan. 2017.

GALEANO, E. A. V.; VENTURA, J. A. Análise comparativa de custos de produção e avaliação econômica dos abacaxis 'Vitória', 'Pérola' e 'Smooth Cayenne'. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 61, jun. 2018.

GARCIA, W. M.; KRAUSE, W.; ARAÚJO, D. V. DE.; SILVA, C. A.; MIRANDA, A. F. DE. Comportamento in vitro do agente etiológico da fusariose e avaliação de métodos de inoculação em abacaxizeiro. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 3, p. 263-268, jul./set. 2015.

GARCIA, W. M.; KRAUSE, W.; ARAÚJO, D. V. DE.; KARSBURG, I. V.; DALLACORT, R. Methods for inoculation with *Fusarium guttiforme* and genetic resistance of pineapple (*Ananas comosus* var. *comosus*). **Rev. Caatinga, Mossoró**, v. 30, n. 2, p. 353-360, abr./jun. 2017.

GOMIDE, M. DA S.; LEMOS, F. DE O.; LOPES, M. T. P.; ALVES, T. M. DE A.; VICCINI, L. F.; COELHO, C. M. The effect of the essential oils from five different *Lippia species* on the viability of tumor cell lines. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.23, p.895-902, nov./dec. 2013.

HASHEM, M.; ALAMRI, S. A. M.; ALQAHTANI, M. S.A.; ALSHEHRI, S. R.Z. A multiple volatile oil blend prolongs the shelf life of peach fruit and suppresses postharvest spoilage. **Scientia Horticulturae**, v.251, p.48-58, jun. 2019.

HOEHNE, F.C. **Botânica e agricultura no Brasil no século XVI**. São Paulo: Nacional, 1937. 410p.

JAVADPOUR, S.; GOLESTANI, A.; RASTEGAR, S.; DASTJER, M.M. Postharvest control of *Aspergillus niger* in mangos by means of essential oil. **Advances in Horticultura Science**, v.32, p. 389-398, sep. 2018.

JIMENEZ, M.; MATEO, J. J.; HINOJO, M. J.; MATEO, R. Sugars and amino acids as factors affecting the synthesis of fumonisins in liquid cultures by isolates of the *Gibberella fujikuroi* complex. **International Journal of Food Microbiology**, v. 89, p.185-193, dec. 2003.

KALEMBA, D.; KUNICKA, A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. **Current Medicinal Chemistry**, v.10, p.813-829, 2003.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de Fitopatologia. Volume 2. Doenças das Plantas Cultivadas**. 4ª Edição. Editora Agronômica Ceres Ltda. São Paulo, 2005. 666p.

LIMA, P. C. C.; SOUZA, B. S.; FYFE, S. Influence of storage temperature and different packaging on the physicochemical quality of fresh-cut 'Perola' pineapple. **IDESIA (Chile)**, v.37, n.2, jun. 2019.

LIMA, B. S.; RAMOS, C. S.; SANTOS, J. P. A.; RABELO, T. K.; SERAFINI, M. R.; SOUZA, C. A.S.; SOARES, L. A. L.; JÚNIOR, L. J. Q.; MOREIRA, J. C. F.; GELAIN, D. P.; ARAÚJO, A. A. S.; SILVA, F. A. Development of standardized extractive solution from *Lippia sidoides* by factorial design and their redox active profile. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.25, p.301–306, may./jun. 2015.

LENGAI, G. M. W., MUTHOMI, J. W., MBEGA, E. R. Phytochemical activity and role of botanical pesticides in pest management for sustainable agricultural crop production. **Scientific African**, v.7, mar. 2020.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A.; BULLOCK, S. **The Fusarium Laboratory Manual**. 388p., Jun. 2006.

LORENZO, D.; DELLACASSA, E.; ATTI-SERANI, L.; SANTOS, A. C.; FRIZZO, C.; PAROUL, N.; MOYNA, P.; MONDELLO, L.; DUGO, G. Composition and stereoanalysis of

Cymbopogon winterianus Jowitt oil from Southern Brazil. **Flavour and fragrance journal**, v.15, p.177-181, may. 2000.

LUTHRA, R.; SINGH, N.; SHARMA, S. Changes in monoterpene content accompanying development of *Cymbopogon winterianus* Jowitt Leaves. **Journal of essential oil research**, v.3, p.349-354, 1991.

MATOS, A.P. Doenças do abacaxizeiro. In: FREIRE, F. das C.O.; CARDOSO, J.E.; VIANA, F.M.P. (Ed.). **Doenças de fruteiras tropicais de interesse agroindustrial**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2003. p.16-55.

MAIA, T. F.; DONATO, A. DE.; FRAGA, M. E. Atividade antifúngica de óleos essenciais de plantas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.17, n.1, p.105-116, 2015.

MATOS, A. P.; SANCHES, N. F.; TEIXEIRA, F. A.; ELIAS JÚNIOR, J. Integrated management of fusariosis in pineapple fields under integrated production system. **Acta Horticulturae**, n.822, p.199-204, 2009.

MELO, L. G. DE L.; SILVA, E. K. C. E.; NETO, J. R. M. C.; LINS, S. R. DE O.; RODRIGUES, A. A. C.; OLIVEIRA, S. M. A. DE. Indutores de resistência abióticos no controle da fusariose do abacaxi. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.51, n.10, p.1703-1709, out. 2016.

MORAIS, S. R. DE; OLIVEIRA, T. L. S.; BARA, M. T. F.; CONCEIÇÃO, E. C.; REZENDE, M. H.; FERRI, P. H.; PAULA, J. R. DE. Chemical constituents of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) leaves cultivated in Hidrolândia, Goiás, Brazil. **International Journal of Analytical Chemistry**, p.4, feb. 2012.

MOURÃO, D. DE S. C.; SOUZA, M. R. DE.; REIS, J. V. L. DOS.; FERREIRA, T. P. DE S.; OSORIO, P. R. A.; SANTOS, E. R. DOS.; SILVA, D. B. DA.; TSCHOEKE, P. H.; CAMPOS, F. S.; SANTOS, G. R. DOS. Fungistatic activity of essential oils for the control of bipolaris leaf spot in maize. **Journal of Medicinal Plants Research**, v.13, p. 280-287, jun. 2019.

NOGUEIRA, S.R.; LIMA, F.S.O.; ROCHA, E.M.; ARAÚJO, D.H.M. Fungicidas no controle de fusariose do abacaxi no estado de Tocantins, Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, v.37, p.447-455, 2014.

NIRENBERG, H.I.; O'DONNELL, K. New *Fusarium* species and combinations within the *Gibberella fujikuroi* species complex. **Mycologia**, v.90, p.434-458, 1998.

OLIVEIRA, J.; PARISI, M. C. M.; BAGGIO, J. S.; SILVA, P. P. M.; PAVIANI, B.; SPOTO, M. H. F.; GLORIA, E. M. Control of *Rhizopus stolonifer* in strawberries by the combination of essential oil with carboxymethyl cellulose. **International Journal of Food Microbiology**, v.292, p.150-158, marc.2019.

PARK, J. Y.; KIM, S. H.; KIM, N. H.; LEE, S. W.; JEUN, Y.; HONG, J. K. Differential inhibitory activities of four plant essential oils on in vitro growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* causing *Fusarium* wilt in strawberry plants. **The plant pathology journal**, v.33, p.582-588, 2017.

PINTO, N. DE O. F. ; RODRIGUES, T. H. S.; PEREIRA, R. DE C. A.; SILVA, L. M. A.; CÁCERES, C. A.; AZEREDO, H. M. C. DE; MUNIZ, C. R.; BRITO, E. S. DE; CANUTO, K. M. Production and physico-chemical characterization of nanocapsules of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. **Industrial Crops and Products**. v. 86, p. 279-288, aug. 2016.

RODRIGUES, K. A. DA F.; DIAS, C. N.; AMARAL, F. M. M. DO; MORAES, D. F. C.; FILHO, V. E. M.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S. Molluscicidal and larvicidal activities and essential oil composition of *Cymbopogon winterianus*. **Pharmaceutical Biology**, v.51, ed.10, p. 1293–1297, jul. 2013.

SALES, M. D. C.; COSTA, H. B.; FERNANDES, P. M. B.; VENTURA, J. A.; MEIRA, D. D. Antifungal activity of plant extracts with potential to control plant pathogens in pineapple. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.6, ed.1, p.26–31, jan. 2016.

SALMANOWICZ, B., NYLUND, J. E., WALLANDER, H. High performance liquid chromatography - Assay of ergosterol: A technique to estimate fungal biomass in roots with ectomycorrhiza. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v.28, p.437-440, feb. 1990.

SANEWSKI, G. M.; BARTHOLOMEW, D. P.; PAULL, R. E. **The Pineapple, 2nd Edition: Botany, Production and Uses**. CAB International, 2018.

SANTOS, P. L.; ARAÚJO, A. A. S.; QUINTANS, J. S. S.; OLIVEIRA, M. G. B.; BRITO, R. G.; SERAFINI, M. R.; MENEZES, P. P.; SANTOS, M. R. V.; ALVES, P. B.; LUCCA JÚNIOR, W. DE; BLANK, A. F.; LA ROCCA, V.; ALMEIDA, R. N.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Preparation, characterization, and pharmacological activity of *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor (Poaceae) leaf essential oil of β -Cyclodextrin inclusion complexes. **Hindawi Publishing Corporation**, p.12, 2015.

SANTOS, C. P. DOS; OLIVEIRA, T. C. DE; PINTO, J. A. O.; FONTES, S. S.; CRUZ, E. M. O.; ARRIGONI-BLANK, M. DE F.; ANDRADE, T. M.; MATOS, I. L. DE; 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.

SEIXAS, P.T.L.; CASTRO, H.C.; SANTOS, G.R.; CARDOSO, D.P. Controle fitopatológico do *Fusarium subglutinans* pelo óleo essencial do capim-citronela (*Cymbopogon nardus* L.) e do composto citronelal. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, p.523-526, 2011.

SILVA, R. R.; CORSO, C. R.; MATHEUS, D. R. Effect of culture conditions on the biomass determination by ergosterol of *Lentinus crinitus* and *Psilocybe castanella*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.26, p.841-846, 2010.

SIMÃO, SALIM. **Tratado de fruticultura**. 760p. 1998.

SINGH, M.; CHANDRASEKHARA, G. D.; RAO, E. V.S. P. Oil and herb yields of java citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt.) in relation to nitrogen and irrigation regimes. **Journal of essential oil research**, v.8, p.531-534, 1996.

TAWEECHASUPAPONG, S.; AIEAMSAARD, J.; CHITROPAS, P.; KHUNKITTI, W. **Inhibitory effect of lemongrass oil and its major constituents on *Candida* biofilm and germ tube formation.** South African Journal of botany, v. 81, p.95-102, jul. 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal.** 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TSUJI, S. S. **Análise filogenética e patogênica do agente causal da fusariose do abacaxizeiro no Brasil.** 2012. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2012.

VENTURA, J. A.; COSTA, H.; CABRAL, J. R. S.; MATOS, A. P. 'Vitória': new pineapple cultivar resistant to fusariosis. **Acta Horticulturae**, v. 822, p. 51-56, 2009. <http://doi.10.17660/ActaHortic.2009.822.4>.

VENTURA, J. A.; ZAMBOLYM, L. Controle das doenças do abacaxizeiro. In: ZAMBOLIM, L. VALE, F. X. R. DO.; MONTEIRO, A. J. A.; COSTA, H. (eds). **Controle de doenças de plantas frutíferas.** Viçosa-MG, 2002, v.1, p.445-509.

VERMA, RAM SWAROOP; SINGH, S.; PADALIA, R. C.; TANDON, S.; KT, V.; CHAUHAN, A. Essential oil composition of the sub-aerial parts of eight species of *Cymbopogon* (Poaceae). v. 142, 2019.

VILAPLANA, R.; PÉREZ-REVELO, K.; VALENCIA-CHAMORRO, S. Essential oils as an alternative postharvest treatment to control fusariosis, caused by *Fusarium verticillioides*, in fresh pineapples (*Ananas comosus*). **Scientia Horticulturae**, v.238, p. 255-263, 2018.

WOLFFENBUTTEL, A. N. **Base da química dos óleos essenciais e aromaterapia.** p.494, 2019.

YANG, X.; JIANG, Z. T.; WANG, Y.; LI, R. Composition Comparison of Volatile Oils of *Cymbopogon winterianus* Jowitt Obtained by Different Extraction Methods. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v.13, n.6, p.721-726, 2010.

YOON, M.; CHA, B.; KIM, J. Recent Trends in Studies on Botanical Fungicides in Agriculture. **The Plant Pathology Journal**, v.29, p. 1-9, 2013.

ZHANG, H., WANG, L., DONG, Y., JIANG, S., CAO, J., MENG, R. Postharvest biological control of gray mold decay of strawberry with *Rhodotorulla glutinis*. **Biological Control**, v.40, p.287-292, feb. 2007.

ZHOU, D.; WANG, Z.; LI, M.; XING, M.; XIAN, T.; TU, K. Carvacrol e eugenol inibem efetivamente *Rhizopus stolonifer* e controlam a decomposição da podridão mole pós-colheita em pêssegos. **Jornal de Microbiologia Aplicada.** v. 124, 2017.