



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

MARIA GINA TORRES SENA

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS CONTRA ISOLADOS
DE *Fusarium* sp. DO MAMÃO (*Carica papaya* L.)

FORTALEZA

2018

MARIA GINA TORRES SENA

**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS CONTRA ISOLADOS
DE *Fusarium* sp. DO MAMÃO (*Carica papaya* L.)**

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

Orientador: Prof. Cristiano Souza Lima

FORTALEZA

2018

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)

S477a Sena, Maria Gina Torres.
Atividade antifúngica de óleos essenciais contra isolados de *Fusarium* sp. do mamão (*Carica papaya* L.) /
Maria Gina Torres Sena. – 2018.
50 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências
Agrárias, Curso de Agronomia, Fortaleza, 2018.
Orientação: Prof. Dr. Cristiano Souza Lima.

1. Podridão pós-colheita. 2. *Fusarium* sp.. 3. Controle alternativo. I. Título.

CDD 630

MARIA GINA TORRES SENA

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS CONTRA ISOLADOS DE
Fusarium sp. DO MAMÃO (*Carica papaya* L.)

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

BANCA EXAMINADORA

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

Dra. Andreia Hansen Oster
Embrapa Agroindústria Tropical

Dra. Christiana de Fátima Bruce da Silva
Embrapa Agroindústria Tropical

Aos meus pais, Gilberto e Edi,

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me guiar nesta caminhada e me abençoar com tantos dos seus melhores anjos ao meu redor.

À Universidade Federal do Ceará, pela oportunidade de me tornar Engenheira Agrônoma e à Embrapa Agroindústria Tropical pela estrutura para a realização do estágio e deste trabalho.

A minha querida orientadora Andreia Hansen Oster pela confiança, dedicação e carinho, pela orientação horizontal e livre, eu te admiro cada dia mais.

Aos meus amados pais, Gilberto Alves Sena e Antonia Edi Torres, que acreditaram e me apoiaram em todos os momentos, vocês são a minha luz.

Aos meus irmãos Danilo, Douglas e Hugo, obrigada por entenderem a minha ausência, pelos momentos de descontração e por se fazerem presentes com tanto amor.

Aos meus tios e primos, que torceram e rezaram por mim.

Ao professor Cristiano pela excelente orientação e disponibilidade de contribuir com este trabalho.

À Dra Christiana de Fátima Bruce pelo tempo dedicado e pelas vindouras contribuições a este trabalho.

Às minhas queridas amigas Maiara Pereira, Ana Cristina, Raphaelly Amorim e Janaina Castro por tantas histórias vividas e compartilhadas, por me apoiarem e motivarem de tantas formas, amo vocês.

Aos meus amigos do Laboratório de Patologia Pós-colheita, Natália, Carol, Ageu, Vitória, Viví, Vinicius e Carlos, pelo espírito de equipe, pelos cafés e conversas que deixaram os dias de trabalho mais leves e felizes. Vocês foram fundamentais nesta caminhada.

Aos professores Eunice Maia e Fernando Bezerra, que me permitiram ingressar na pesquisa científica, e ao meu querido amigo, Givanilson, com quem aprendi tanto.

À Agrônômica, onde cresci como pessoa e profissional ao lado de pessoas extraordinárias como Abel Bruno, Lucas Aguiar, Celly Maia, Caique Duarte, Antonio Nascimento, Eliete Reis e Jean Oliveira. Grata por todo o aprendizado e amizade construída.

Às minhas amigas de vida que o tempo não distancia, Dalismar e Liane, levo vocês sempre comigo.

Ao pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, Dr. Kirley Canuto, e a Sheila Queiroz que auxiliaram na obtenção dos óleos essenciais e análises.

A todos vocês, sou muito grata!

RESUMO

Dentre as culturas de relevante interesse econômico para a fruticultura, destaca-se o mamoeiro. Caracterizado pelo amadurecimento rápido e por ser muito perecível, os seus frutos possuem alta susceptibilidade a doenças causadas por fungos na pós-colheita. O seu controle normalmente é feito através da utilização de fungicidas, que quando usados indevidamente apresentam grandes riscos ao ambiente e à saúde humana. Assim, na busca por reduzir esses efeitos, o uso de óleos essenciais vem como um controle alternativo de doenças na pós-colheita de frutos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar *in vitro* o efeito antifúngico de óleos essenciais extraídos de plantas (*Cymbopogon citratus*, *Lippia sidoides*, *Ocimum micranthum* e *Ocimum gratissimum*), no crescimento micelial de isolados de *Fusarium* sp., agente causal de podridões em frutos de mamão. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com sete concentrações de quatro óleos para cada isolado, com três repetições. Foi calculada a porcentagem da inibição do crescimento micelial e as médias foram submetidas à análise de variância e ao teste de Tukey a 5% de probabilidade. Imagens de microscopia de luz foram utilizadas para visualizar o efeito dos tratamentos na germinação do isolado mais sensível aos tratamentos. Os resultados obtidos indicaram que os óleos essenciais com efeito antifúngico mais eficientes foram de *L. sidoides*, *O. gratissimum*, *O. micranthum* e *C. citratus*, respectivamente. Os isolados apresentaram respostas distintas para os mesmos tratamentos, sendo o isolado LPPC 81 o mais sensível aos óleos.

Palavras-chave: Podridão pós-colheita. *Fusarium* sp. Controle alternativo.

ABSTRACT

Papaya stands out among the crops of relevant economic importance for fruit production. Characterized by rapid ripening and being very perishable, its fruits are highly susceptible to diseases caused by post-harvest fungi. Their control is usually done through the use of fungicides, which when used improperly lead to risks to the environment and to human health. Thus, in the search for reducing these effects, the use of essential oils comes as an alternative control of diseases in post-harvested fruits. The objective of this study was to evaluate the antifungal effect of essential oils extracted from plants (*Cymbopogon citratus*, *Lippia sidoides*, *Ocimum micranthum* and *Ocimum gratissimum*) on mycelial growth of isolates of *Fusarium* sp., a causal agent of rot in papaya fruits. The experimental design was completely randomized with seven concentrations of four oils to each isolate, with three replicates. The percentage of mycelial growth inhibition was calculated, and the means were submitted to analysis of variance and the Tukey test at 5% probability. Light microscopy images were used to visualize the effect of the treatments on the germination of the isolate more sensitive to the treatments. The results indicate that the most effective essential oils to reduce mycelial growth were from *L. sidoides*, *O. gratissimum*, *O. micranthum* and *C. citratus*, respectively. The isolates presented distinct responses for the same treatments, and the LPPC 81 isolate was the most sensible to the oils.

Key words: Postharvest rot. *Fusarium* sp. Alternate control.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1 Importância da cultura do mamoeiro	11
2.2 Doenças fungicas em mamão na pós colheita.....	13
2.3 Espécies de <i>Fusarium</i> como agentes etiológicos de doenças pós-colheita no mamão.....	14
2.4 Óleos essenciais no controle de patógenos causadores de podridões pós-colheita de frutos	15
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.1 Local dos experimentos	19
3.2 Obtenção dos isolados.....	19
3.3 Extração dos óleos essenciais	19
3.4 Caracterização química dos óleos essenciais.....	19
3.5 Avaliação da atividade antifúngica dos óleos essenciais <i>in vitro</i>	22
3.6 Delineamento experimental e análise estatística.....	20
3.7 Visualização do efeito dos óleos essenciais em isolado de <i>Fusarium</i> sp. por microscopia de luz.....	21
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1 Caracterização química dos óleos essenciais	23
4.2 Atividade antifúngica dos óleos essenciais <i>in vitro</i>	28
4.3 Visualização do efeito dos óleos essenciais em isolado de <i>Fusarium</i> sp. por microscopia de luz	39
5 CONCLUSÕES	42
REFERÊNCIAS	433

1 INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é uma frutífera de relevante interesse econômico. Em 2017, a produção a nível mundial de mamão chegou a 13 milhões de toneladas, sendo o Brasil o segundo maior produtor (FAO, 2017). Em 2016, a região nordeste do país foi responsável por 71% da produção nacional, o Ceará se destaca nesse cenário por ser o terceiro maior produtor brasileiro, ficando atrás apenas dos estados da Bahia e Espírito Santo (IBGE, 2016). Os principais polos de produção de mamão no estado se concentram na região do Baixo Jaguaribe e Baixo Acaraú, em 2016 a produção dessa região chegou à 80.995 toneladas (LUCENA, 2016).

O consumo do fruto se dá principalmente *in natura*, e por ser muito perecível devido ao rápido amadurecimento após a colheita (LI *et al.*, 2013), há uma busca por alternativas que aumentem o seu período de vida útil e reduzam as perdas pós-colheita causadas por injúrias e doenças.

Dentre as principais causas de perda pós-colheita destaca-se a elevada incidência de podridões, causados principalmente por doenças fúngicas, dentre as quais se destacam aquelas ligadas ao gênero *Fusarium* (SUZUKI *et al.*, 2007). Em geral, esse patógeno necessita de um fator de pré-disposição para causar doença, como ferimentos ou estar associado à outros patógenos (NISHIJIMA, 1998), no entanto, além da grande frequência da doença, este gênero é comumente ligado a produção de micotoxinas, danosas a saúde de vários animais, o que torna este um grupo importante de fitopatógenos (KAMINSKI, 2017).

O controle da doença normalmente é feito através da utilização de fungicidas, no entanto quando usados indevidamente estes produtos podem causar grande impacto ambiental e à saúde humana. Assim, na busca por reduzir esses efeitos diversos estudos tem sido realizados na busca de compostos com atividade antifúngica, dentre eles destacam-se os óleos essenciais (OLIVEIRA *et al.*, 2018; SARKHOSH *et al.*, 2018).

Portanto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar *in vitro* o efeito antifúngico de óleos essenciais extraídos de plantas (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf, *Lippia sidoides* Cham, *Ocimum gratissimum* L. e *Ocimum micranthum* Willd. (sin.: *Ocimum Campechianum* Mill.), no crescimento micelial de isolados de *Fusarium* sp, agente causal de podridões em frutos de mamão.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância da cultura do mamoeiro

Com uma produção de mais de 40 milhões de toneladas de frutas por ano, o Brasil ocupa o terceiro lugar em produção mundial, o setor emprega cinco milhões de pessoas, 16% do total das vagas do agronegócio. De acordo com a Associação Brasileira de Produtores e Exportadores de Frutas e Derivados - ABRAFRUTAS (ABRAFRUTAS, 2018), as exportações em 2018 devem somar US\$ 920 milhões e chegar a US\$ 1 bi em 2019. Apesar da expressiva quantidade produzida, o país exporta apenas 3% do que produz (SEBRAE, 2018), conforme a ABRAFRUTAS e o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, para eles o país precisa diversificar as exportações da fruticultura para ter mais presença global, pois considerando o período 2014-2016, apenas cinco produtos concentram cerca de 75% do comércio exterior da cadeia: mangas, castanhas, melões, limões e uvas.

Nesse cenário, a cultura do mamoeiro (*Carica papaya* L.) se destaca por ser de grande potencial. Considerando projeções de produção, consumo e exportação, após a melhoria das condições de plantio, controle fitossanitário e investimentos logísticos na região Nordeste, principal produtora, o mamão brasileiro se apresenta competitivo no mercado externo (SEBRAE, 2018).

O mamoeiro pertence à família Caricaceae, tem origem na América Central e é uma planta tipicamente tropical, disseminada praticamente em todo o território nacional (FARIAS *et al.*, 1994). O gênero *Carica* se destaca entre os seis gêneros conhecidos da família por incluir a espécie *C. papaya*, única produzida comercialmente. (DROOGENBROECK *et al.* 2002).

O fruto é comercializado essencialmente na forma fresca, já que é boa fonte de cálcio, excelente fonte de provitamina A e de ácido ascórbico (vitamina C). Além disso, do látex do fruto verde é extraída a papaína, enzima utilizada para os mais variados fins nas indústrias têxteis, farmacêuticas, de alimentos e de cosméticos. Das folhas, dos frutos e das sementes do mamoeiro é extraído também um alcaloide denominado carpaína, utilizado como ativador cardíaco (SEBRAE, 2016).

Em 2017, a produção mundial de mamão chegou à 13.050.749 toneladas. O Brasil é um dos líderes do setor, sendo o segundo maior produtor mundial, responsável pela produção de 1.424.650 toneladas no mesmo ano, o principal produtor, a Índia produziu cerca de 5.699.000 toneladas (FAO, 2017).

A região Nordeste do país é responsável por 71% da produção nacional. O Ceará se destaca nesse cenário por ser o terceiro maior produtor brasileiro, com 110.520 toneladas em 2016, ficando atrás apenas dos estados da Bahia e Espírito Santo (IBGE, 2016). No Ceará

os principais polos de produção de mamão se concentram na região do Baixo Jaguaribe e Baixo Acaraú, em 2016 a produção dessa região chegou à 80.995 toneladas (LUCENA, 2016).

2.2 Doenças fúngicas em mamão na pós-colheita

O mamão, por ser um fruto climatérico, passa por profundas mudanças na fase de amadurecimento, associadas ao etileno (LI *et al.*, 2013). Caracterizado pelo amadurecimento rápido e por ser muito perecível, possui alta susceptibilidade a doenças pós-colheita. Os níveis de incidência e severidade de doenças são usualmente tão altos que o seu controle é imprescindível para se obter produções rentáveis e aceitáveis pelo mercado (SUZUKI *et al.*, 2007).

A cadeia produtiva de mamão enfrenta o desafio de manter o destaque na produção mundial sem ter a rentabilidade do produto prejudicada, para isso é necessário que haja manutenção da qualidade do produto mesmo perante as adversidades climáticas e aumento da incidência de doenças, especialmente na pós-colheita (consideradas o principal empecilho para exportação) (BOTEON, 2005). Dentre as 13 frutas e hortaliças acompanhadas pelo Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (Cepea-Esalq/USP), o mamão havaí teve a maior queda de preços em 2017, de 70% em relação à 2016. Essas desvalorizações estão atreladas, dentre outros fatores, à maior incidência de doenças fúngicas, que afetam a qualidade da fruta e dificultam a comercialização (Hortifruti/Cepea, 2018).

Em doenças pós-colheita, a infecção geralmente ocorre devido à danos mecânicos na superfície dos frutos ou por infecções latentes que só se manifestam à medida em que o fruto amadurece. Os agentes causadores dessas doenças apresentam características comuns, que são a capacidade de se estabelecerem no fruto imaturo e permanecerem em estado quiescente, sem o aparecimento de sintomas, até que haja condições para que o processo de infecção tenha lugar (NERY-SILVA *et al.*, 2001). Assim, ainda que estas doenças não apresentem os sintomas nas condições de campo, a doença se manifesta posteriormente na fase de embalagem, transporte e comercialização (ISTÉRIO, 1997).

São exemplos de doenças pós-colheita a antracnose, causada por *Colletotrichum* spp. Corda, as podridões causadas por *Aspergillus* P. Micheli, *Alternaria* Nees, *Cladosporium* Link, *Cercospora* Fresen, podridão por *Fusarium* Link, por *Phytophthora* de Bary e por *Rhizopus* Ehrenb (SNOWDON, 1990), além da podridão peduncular, onde estão envolvidos um complexo de patógenos, incluindo *Lasiodiplodia* Ellis & Everh, *Phoma caricae-papayae* (Tarr.) Punithalingam, *Phomopsis caricae-papayae* Petr. & Cif, *Phytophthora palmivora*

Butler e *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb., Fr.) Vuill. (DANTAS *et al.*, 2003). Peres *et al.* (2000), avaliando a incidência de patógenos fúngicos associados à podridão peduncular de mamão, apontaram *Fusarium* como o gênero de maior ocorrência no Brasil.

2.3 Espécies de *Fusarium* como agentes etiológicos de doenças pós-colheita no mamão

Em geral, fungos do gênero *Fusarium*, causadores de podridões em pós-colheita necessitam de um fator de predisposição no hospedeiro para iniciar a infecção (NISHIJIMA, 1998). Ocasionalmente, durante o armazenamento, frutos intactos podem se tornar susceptíveis à penetração direta pelo fungo (SNOWDON, 1990), mas normalmente a podridão por *Fusarium* em mamão ocorre associada a lesões causadas por outros patógenos ou ferimentos na epiderme que facilita sua entrada, por isso são considerados invasores secundários de lesões causadas por outros agentes bióticos ou abióticos (REZENDE; FANCELLI, 1997).

Entretanto, diversas espécies do gênero, como *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg e *F. proliferatum* (Matsush.) Nirenberg produzem fumonisinas, que são micotoxinas associadas à doenças em mamíferos, tais como leucoencefalomalácia em cavalos, edema pulmonar em suínos e hepatocarcinoma em ratos, além de estar relacionada à inibição da biossíntese de esfingolipídios e ao aumento do risco de cancro esofágico em seres humanos (KAMINSKI, 2017), o que faz deste um grupo de fungos importante como agentes causais de podridões de frutos.

A podridão por *Fusarium* sp. foi inicialmente relatada em Israel, Índia, Filipinas e Havaí. O patógeno é habitante do solo, sobrevive por vários anos depois de introduzido devido à sua capacidade saprofítica em matéria orgânica, produz estruturas de sobrevivência (clamidósporos) e ocasiona doenças em outras plantas hospedeiras (MATOS, 2012).

Os sintomas da enfermidade se expressam sob a forma de lesões aquosas ou secas, deprimidas, pequenas (15 mm), mas podem atingir 4 cm de diâmetro, frequentemente cobertas por micélio branco e compacto do patógeno (OLIVEIRA *et al.*, 2006). Associadas à podridão por *Fusarium* sp. em mamão diversas espécies patogênicas já foram identificadas, dentre as quais as mais comuns são *F. solani* (Mart.) Appel & Wollenw., *F. equiseti* (Corda) Sacc., *F. semitectum* Berk. & Rav. e *F. anthophilum* (A. Braun) Wollenw (SNOWDON, 2008).

O controle dessas doenças normalmente é realizado através da aplicação contínua de defensivos (fungicidas). No entanto, quando usados indevidamente causam consequências indesejáveis, como, por exemplo, o aumento a seleção de isolados resistentes dos patógenos

(CASTRO *et al.*, 2009), efeitos nocivos para o meio ambiente e para a saúde humana, o que leva a uma crescente demanda por novas alternativas de controle (MORANDI; BETTIOL, 2009).

2.4 Óleos essenciais no controle de patógenos causadores de podridões pós-colheita de frutos

Com o objetivo de encontrar alternativas que provoquem menor impacto ambiental e à saúde humana, diversos estudos têm sido conduzidos na busca de compostos com atividade antifúngica que possam substituir os fungicidas convencionais utilizados para controle de podridões e doenças pós-colheita (DEMARTELAERE *et al.*, 2017; LOPES, L. F., 2018; ZILLO, R. R., 2017). Dentre os resultados recentes de pesquisas com controle alternativo destacam-se a utilização de microrganismos antagonistas (HAILMI *et al.* 2017), extratos de plantas (FREITAS *et al.*, 2018), e uso de óleos essenciais (OLIVEIRA *et al.*, 2018; REGMI e JAH, 2018; SARKHOSH *et al.*, 2018).

Os óleos essenciais são produtos naturais derivados de plantas, caracterizados quimicamente como misturas complexas de compostos de baixo peso molecular, altamente voláteis, diferente dos óleos fixos, que são misturas de substâncias lipídicas, obtidos geralmente de sementes de oleaginosa (EDRIS, 2007). São compostos principalmente de mono e sesquiterpenos e de fenilpropanoides, metabólitos secundários que conferem suas características organolépticas (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

De origem do metabolismo secundário das plantas, não são ligados diretamente à produção de compostos essenciais a sua sobrevivência, no entanto atuam como sinais de comunicação química do reino vegetal, na atração de agentes polinizadores, de defesa contra herbívoros, como reguladores da taxa de decomposição da matéria orgânica no solo e como agentes antimicrobianos (CASTRO *et al.*, 2004), o que tornam as plantas produtoras de grande interesse na agricultura, por apresentarem atividades bactericidas, inseticidas e fungicidas (WOLFFENBÜTTEL, 2010).

No que diz respeito ao controle das podridões pós-colheita do mamão, Barrera-Necha *et al.* (2008) avaliaram a eficácia de nove óleos essenciais para controlar *C. gloesporioides* e verificaram que os óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum* Blume e *Syzygium aromaticum* Merr. & L. M. Perry, em concentrações de 50 µg mL⁻¹ foram eficientes em controlar a antracnose, já que a incidência foi de no máximo 13%. Enquanto que em outro estudo, a incorporação de óleo essencial de tomilho nas concentrações de 0,10 e 0,15% com goma mesquita e cera de *Euphorbia antisiphilitica* Zucc reduziu o crescimento de *R.*

stolonifer e *C. gloerosporioides* respectivamente em 40 e 100% no mamão cv. ‘Maradol’ (BOSQUEZ-MOLINA *et al.*, 2010).

Dentre as plantas que caracterizam-se pela produção de óleos, e pela atividade antimicrobiana destacam-se o *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf, *Lippia sidoides* Cham, *Ocimum gratissimum* L. e *Ocimum micranthum* Willd. (sin.: *Ocimum Campechianum* Mill.).

2.4.1 *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf – Capim limão

Cymbopogon citratus é originária da Índia e largamente distribuída em vários países tropicais, dentre eles o Brasil. Pertence à família Poaceae e se constitui numa planta perene, que forma touceiras compactas e robustas, com rizoma semisubterrâneo (Figura 1) (COSTA *et al.*, 2005).

Figura 1- Espécie vegetal *Cymbopogon citratus*.



Fonte: Floridata, 2004.

O óleo essencial é extraído principalmente de folhas frescas ou secas, sendo largamente utilizado na indústria farmacêutica e estudado por possuir propriedades antimicrobianas, estas ligadas principalmente aos componentes α -citról (geraniol) e β -citról (neral) (ONAWUNMI; YISAK; OGUNLANA, 1984), que em geral são os seus principais constituintes (KASALI; OYEDEJI; ASHILOKUN, 2001).

Diversos estudos verificaram resultados eficientes no uso deste óleo no controle de fitopatógenos. Aquino *et al.* (2012) observaram que o óleo foi eficiente no controle de antracnose em frutos de maracujá na concentração de $6 \mu\text{L.mL}^{-1}$. O arroz tratado com o óleo

essencial de capim-limão pode ser usado na inibição do crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn e *Sclerotium rolfsii* Sacc. (GONÇALVES *et al.*, 2015).

Oliveira (2018) observou que o uso de revestimentos formados por combinações sinérgicas de quitosana (5 mg.mL^{-1}) e óleo essencial de *C. citratus* (0,15, 0,3 ou $0,6 \mu\text{L.mL}^{-1}$), diminuíram o desenvolvimento da lesão de antracnose em goiabas, mangas e mamões inoculados com espécies de *Colletotrichum*. Em mamão, Carnelossi *et al.* (2009) relata que este óleo apresenta bons resultados no controle *in vivo* de *C. gloeosporioides*.

2.4.2 *Lippia sidoides* Cham – Alecrim pimenta

Lippia sidoides é um arbusto comumente encontrado no Nordeste brasileiro, pertencente à família Verbenaceae, popularmente conhecido como "Alecrim-pimenta" (Figura 2). Esta espécie produz óleo essencial que pode ser extraído de folhas (secas ou frescas), talos ou caules, flores, cascas e raízes, e é rico em timol e carvacrol (COSTA *et al.*, 2002).

Figura 2 - Espécie vegetal *Lippia sidoides*.



Fonte: Soares, 2011.

O seu óleo essencial é alvo de diversos estudos na medicina e farmacologia em função das suas propriedades antissépticas, antimicrobianas e antioxidantes (LACOSTE *et al.*, 1966; COSTA *et al.*, 2018).

Na agricultura, destaca-se por possuir atividade acaricida, larvicida e inseticida (CARVALHO *et al.*, 2003; OLIVEIRA *et al.*, 2018), além de atividade antimicrobiana, contra fungos como *C. gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. (JÚNIOR *et al.*, 2009), *C. musae*

(Berk. & M.A. Curtis) Arx (VIANA *et al.*, 2012), *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn e *S. rolfsii* (FERREIRA *et al.*, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 1998). Zillo (2017) avaliando o efeito de três diferentes óleos essenciais no crescimento *in vitro* de *C. gloesporioides* do mamão, observou que o óleo de *L. sidoides* apresentou o melhor desempenho, com concentração inibitória mínima de 125 ppm e nos ensaios *in vivo* mostraram os menores valores de severidade da doença.

2.4.3 *Ocimum gratissimum* L. - Alfavaca cravo

Ocimum gratissimum é um subarbusto lenhoso pertencente à família Lamiaceae tem como nome vulgar alfavaca-cravo (Figura 3). É originário da Ásia e África e subespontâneo em todo território brasileiro (VIEIRA; SIMON, 2000). É comumente utilizado no Brasil como tratamento de gripe, micoses, bronquite, tosse, resfriado e como diurético (DI STASI, 2002).

Figura 3 - Espécie vegetal *Ocimum gratissimum* L.



Fonte: Rita de C. Pereira, 2011.

O óleo essencial obtido da parte aérea dessa espécie pode ser classificado em três quimiotipos (eugenol, timol e geraniol) de acordo com seus constituintes principais (VIEIRA *et al.*, 2001). Esses compostos fenólicos possuem elevados potenciais antimicrobianos (BURT, 2004). Passos *et al.* (2009) verificaram a ação inibitória do óleo sobre as bactérias *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, e *Escherichia coli*.

Em se tratando de fitopatógenos, Nascimento (2017) observou que este óleo essencial foi capaz de inibir totalmente o crescimento *in vitro* de *C. gloeosporioides*, isolado do pimentão, não permitindo a sua esporulação mesmo na menor concentração testada, de 2500 ppm. A atividade antifúngica desse óleo também já é conhecida na inibição do crescimento micelial de *A. alternata*, *L. theobromae*, e *C. gloeosporioides*, isolados do mamão (AMORIM, 2017).

2.4.4 *Ocimum micranthum* Willd. (sin.: *Ocimum campechianum* Mill.) – Alfavaca de galinha

Nativa de regiões tropicais e subtropicais da América, essa espécie também pertence à família Lamiaceae e é caracterizada morfológicamente como uma planta de ciclo anual ou perene, de 10 a 60 cm de altura, formado de base lenhosa e ramos eretos. É conhecida no nordeste brasileiro como alfavaca de galinha, alfavaca brava e manjericão (Figura 4) (HOLANDA; ALBUQUERQUE, 1998).

Figura 4 - Espécie vegetal *Ocimum micranthum* L.



Fonte: Rita de C. Pereira, 2011.

É amplamente utilizada como condimento e na medicina popular, no tratamento de tosses, bronquite e indigestão (DI STASI, 2002). O óleo essencial extraído de folhas, inflorescências e sementes da planta adulta são de grande interesse farmacológico por possuir propriedades anti-inflamatórias e antiespasmódicas (PINHO *et al.*, 2012), e para agricultura, por possuir compostos com atividade antifúngica conhecida. Amorim (2017) constatou a

atividade biológica desse óleo na inibição total do crescimento *in vitro* de *A. alternata*, *L. theobromae*, e *C. gloeosporioides*, isolados do mamão.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local dos experimentos

Os experimentos foram realizados nos laboratórios de Química de Produtos Naturais (LQPN) e Patologia Pós Colheita (LPPC), ambos localizados na Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, Ceará.

3.2 Obtenção dos isolados de *Fusarium* sp.

Foram utilizados três isolados de *Fusarium* sp.: LPPC 44, LPPC 68 e LPPC 81, obtidos da Coleção de Microorganismos de Interesse da Agroindústria Tropical (CMIAT). Estes isolados foram obtidos a partir de frutos de mamão com sintomas característicos de podridão, sendo isolados e cultivados em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), feito isolamento monospóricos.

Os isolados foram identificados e preservados sob duas formas, pelo método de Castellani adaptado por Figueiredo (1967) para fungos fitopatogênicos, sob temperatura de 10 °C, e em sílica-gel, onde uma suspensão de esporos do fitopatógeno foi distribuída sob a sílica-gel e em seguida mantida a temperatura de 10 °C (PERKINS, 2005).

Para a reativação dos isolados foram utilizadas placas de Petri contendo meio de cultura BDA. Após a reativação dos isolados e obtenção da cultura, discos de 5 mm de diâmetro foram retirados da borda da cultura pura e transferidos para o centro de novas placas de Petri contendo meio BDA, e mantidos em temperatura média de 25 °C em câmara tipo BOD, com fotoperíodo de 12 horas, por 7 dias.

3.3 Extração dos óleos essenciais

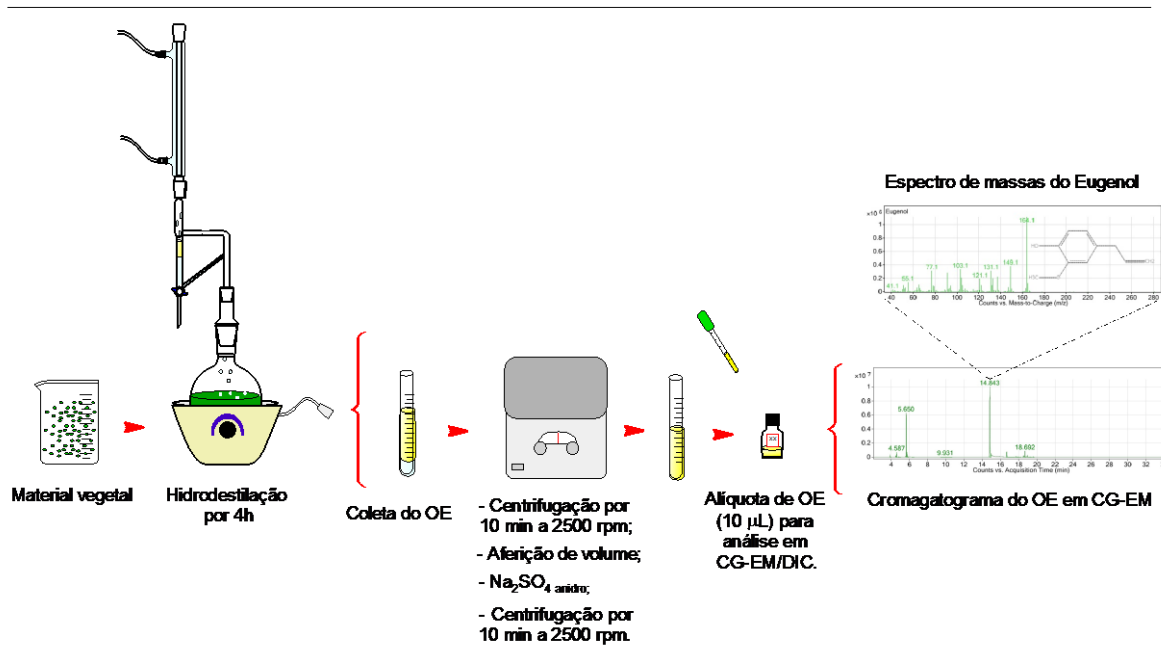
As plantas utilizadas nos ensaios foram cultivadas no Horto de Plantas Medicinais e Aromáticas, localizado na Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT) e a extração dos óleos essenciais foi realizada no Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais, também localizado na CNPAT.

Para a extração, porções de folhas frescas das plantas foram colhidas pela manhã, entre sete e oito horas, e procedeu-se com o seu beneficiamento em laboratório. Este consistiu na retirada de impurezas e material danificado. As folhas foram cortadas e submetidas ao

processo de hidrodestilação em sistema tipo *Clevenger* por 4 horas. Nesse processo, a amostra foi imersa em água e quando aquecida, o seu óleo foi arrastado pelo vapor de água passando por um condensador, e por ser menos denso que a água, se separa em uma escala volumétrica adaptada ao equipamento.

Após 4 horas de extração, os óleos foram colhidos e centrifugados por dez minutos à 2.000 rpm, aferidos os seus volumes, separados do hidrolato e tratados com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) para retirada da umidade restante (Figura 5). Por fim, foram acondicionados em frascos de vidro âmbar e armazenados sob refrigeração à 4 °C para posterior análise cromatográfica e ensaios (SANTOS et al, 2004).

Figura 5 - Ilustração resumida do processo de hidrodestilação e análise de óleo essencial (OE) em CG-EM.



Fonte: ACD/ChemSketch (Freeware).

Em paralelo a extração, 5 g do material vegetal de cada planta foram utilizados para a determinação da umidade (adaptado de PIMENTEL *et al.*, 2008). O material foi emergido em 50 mL de ciclohexano, adicionado a um balão de fundo chato e acoplado a um aparelho *dean stark* e condensador. Após 3 horas de aquecimento por meio da manta aquecedora, quantificou-se o volume de água presente no material vegetal e calculou-se o rendimento do óleo essencial (Tabela 1).

Tabela 1 - Massa (g), teor de umidade (%) e rendimento (%) dos óleos essenciais obtidos das espécies vegetais utilizadas nos ensaios.

Espécie	Parte da Planta	Massa (g)	Umidade (%)	Rendimento de OE* (%)
<i>C. citratus</i>	Folhas	342,5	66,0	2,23
<i>L. sidoides</i>	Folhas	200,0	68,0	1,09
<i>O. gratissimum</i>	Folhas	190,0	74,0	2,83
<i>O. micranthum</i>	Folhas	200,0	78,0	0,90

*Rendimento em base livre de umidade (BLU). Fonte: elaborada pela autora.

3.4 Caracterização química dos óleos essenciais

Os óleos essenciais foram caracterizados quimicamente através de cromatografias a gás acopladas a espectrometria de massas (CG – EM) para identificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais e por cromatografia gasosa por detecção por ionização em chama (CG – DIC) para saber a proporção destes constituintes.

3.4.1 Análise por Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massas

As análises por CG-EM foram realizadas com auxílio do Agilent modelo GC-7890B /MSD-5977A (quadrupolo), com impacto de elétrons a 70 eV, coluna HP-5MS metilpolissiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm, Agilent) e gás carreador hélio com fluxo 1,00 mL.min⁻¹ (8,8 psi). A velocidade foi linear constante de 36,8 cm.s⁻¹, com temperatura do injetor de 250 °C, temperatura do detector 150 °C, temperatura da linha de transferência 280 °C. A programação do forno cromatográfico foi a seguinte: temperatura inicial de 70 °C, com rampa de aquecimento de 4 °C.min⁻¹ até 180 °C e acréscimo de 10 °C/min até 250 °C, ao término da corrida (34,5 min).

A identificação dos compostos foi realizada pela análise dos padrões de fragmentação exibidos nos espectros de massas com aqueles presentes na base de dados fornecidos pelo equipamento (NIST, versão 2.0 de 2008 – 287.324 compostos), bem como 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 C7-C30, 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

As análises por CG-DIC foram realizadas em um instrumento Shimadzu modelo CG-2010 Plus, coluna RTX-5 metilpolisiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm), com modo de injeção com divisão de fluxo 1:30, gás carreador nitrogênio com fluxo 1,00 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (84,1 kPa), temperatura do injetor 250°C e temperatura do detector de 280 °C. A programação do forno cromatográfico foi com: temperatura inicial de 70 °C com rampa de aquecimento de 4 °C. min^{-1} até 180 °C por 27,5 min, seguida por rampa de aquecimento de 10°C. min^{-1} 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 C7-C30, e de dados da literatura. A proporção de cada composto no óleo essencial foi calculada por normalização das áreas dos respectivos picos.

3.5 Avaliação da atividade antifúngica dos óleos essenciais *in vitro* contra os isolados de *Fusarium* sp.

A atividade antifúngica dos óleos essenciais foi avaliada *in vitro*, a partir da adaptação da metodologia de Bosquez-Molina (2010), com os óleos essenciais incorporados em meio batata-dextrose-ágar (BDA), em diferentes concentrações (0 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ (controle), 250 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$, 500 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$, 750 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$, 1000 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$, 1500 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ e 2000 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$). Foram utilizados três isolados do gênero *Fusarium*: LPPC 44, LPPC 63 e LPPC 81.

Os óleos essenciais e o dispersante Tween 20, na proporção 1:1, foram adicionados ao meio de cultura BDA, nas concentrações citadas acima. Posteriormente, o meio de cultura contendo o tratamento foi distribuído em placas de Petri de 90 mm. Para o tratamento controle, foi utilizado apenas meio de cultura BDA solidificado vertido em placas de Petri sem a incorporação dos óleos essenciais.

Após a solidificação do meio, um disco de micélio de 5 mm de diâmetro, obtido de colônia pura cultivada por sete dias em meio BDA, com fotoperíodo de 12 h e temperatura média de 25 °C, foi transferido para o centro de cada placa. As placas foram mantidas em incubadoras do tipo BOD, à temperatura média de 25 °C sob fotoperíodo de 12 h.

A avaliação foi realizada após 15 dias do início do ensaio, ou até que o tratamento controle atingisse toda a superfície da placa. Para a avaliação utilizou-se um paquímetro digital, medindo-se o crescimento micelial em dois eixos ortogonais.

3.6 Delineamento experimental e análise estatística

Utilizou-se o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), analisado no esquema fatorial 7x3 (sete concentrações x três isolados) com três repetições, onde cada placa correspondeu a uma repetição. As médias de crescimento micelial obtidas no décimo quinto dia foram utilizadas para a determinação da percentagem de inibição do crescimento micelial (ICM%), de acordo com a equação 1.

$$\text{ICM (\%)} = [(D_c - D_t) / D_c] * 100]$$

Onde,

ICM - Inibição do crescimento (%);

D_c - Diâmetro da colônia do tratamento controle (mm);

D_t - Diâmetro da colônia dos tratamentos com óleos essenciais (mm);

Equação 1. Cálculo da inibição do crescimento micelial do patógeno.

Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, através do programa estatístico Sisvar versão 5.6.

3.7 Visualização do efeito dos óleos essenciais em isolado de *Fusarium* sp. por microscopia de luz

Para observar a interferência dos óleos na germinação e crescimento inicial de *Fusarium* sp. em microscopia de luz, foram selecionados dois óleos em suas concentrações mais eficientes e o isolado mais sensível aos tratamentos, com base nos resultados obtidos nos ensaios *in vitro*, e na análise estatística.

Os óleos essenciais e o dispersante Tween 20, na proporção 1:1, foram adicionados ao meio de cultura BDA, nas concentrações pré-estabelecidas. Após isso, o meio de cultura contendo o tratamento foi distribuído em placas de Petri de 90 mm. Para o tratamento controle foi utilizado apenas meio de cultura BDA solidificado vertido em placas de Petri, sem a incorporação dos óleos essenciais. Após solidificação do meio, adicionou-se uma alíquota de 300 µL da suspensão de esporos ajustada para a concentração de 1.10⁻⁶ mL⁻¹, e espalhadas na placa com auxílio de uma alça de Digralsky.

As amostras para visualização foram retiradas nos tempos 0 (zero) e 24 (vinte e quatro) horas após esse procedimento. Amostras destinadas à análise somente após 24 h tiveram as placas lacradas com papel parafilme, e foram mantidas em incubadoras do tipo BOD, à temperatura média de 27±2 °C, com fotoperíodo de 12 horas.

Para a visualização em microscópio de luz, um cubo de aproximadamente 4 cm² foi retirado do meio de cultura com o auxílio de um bisturi, e foram depositadas em lâminas estéreis. Em seguida, as lâminas foram cobertas com lamínulas de vidro estéreis e levadas ao microscópio. As amostras foram analisadas em microscópio Zeiss AXIO, no aumento de 400X.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização química dos óleos essenciais

4.1.1 Capim limão (*C. citratus*)

As análises de CG-EM/DIC do óleo essencial de capim limão indicam a presença de oito compostos (Tabela 3), sendo majoritário o citral, que é uma mistura dos isômeros o geranial (47,74%) e neral (35,72%), e como composto secundário na composição do óleo, o Mirceno *et al.*, (13,9 %).

Tabela 3 - Composição química do óleo essencial extraído de folhas de capim limão (*Cymbopogon citratus*).

Componente	CG-MS		CG-DIC	
	IK ¹	IK ²	IK ³	Área (%)
Mirceno	993	990	997	13,90
β-(E)-Ocimeno	1057	1050	1054	0,18
Não Identificado	1110	–	1108	0,08
cis-Crisntenol	1172	1164	1171	0,85
(E)-Isocitral	1188	1180	1188	1,52
Neral	1246	1238	1252	35,72
Geranial	1275	1267	1281	47,74
TOTAL				100

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

Apesar do grande número de fatores, bióticos e abióticos capazes de interferirem na composição química do óleo essencial, os resultados obtidos se assemelham aos encontrados em outros estudos (BASSOLÉ *et al.*, 2011; TCHOUMBOUNANG *et al.*, 2005). Onawunmi *et al.* (1984) também observaram como constituintes majoritários o citral,

sendo representado pelos isômeros geranial (52,8%) e neral (36,65%) e como composto secundário o mirceno (3,73%).

Mais recentemente, Bayala *et al.* (2018) encontraram valores próximos aos do presente estudo, tendo o citral como componente principal com 82,55%, composto por geranial (48,18%) e neral (34,37%). Diop *et al.* (2017) identificaram a predominância desses constituintes tanto na análise dos óleos quanto de águas florais obtidas dessa espécie. Barbosa *et al.* (2008) ao avaliarem diferentes amostras verificaram variações de 40,7% à 75,4% no total de neral e geranial, respectivamente. Os autores observaram também que o processo de moagem das folhas reduziu significativamente (em até 68%) o teor de óleo essencial, bem como a porcentagem de mirceno nos óleos.

4.1.2 Alecrim pimenta (*L. sidoides*)

As análises de CG-EM/DIC do óleo essencial de alecrim pimenta indicam a presença de trinta e sete compostos (Tabela 4), sendo majoritários o timol (60,19%), e-cariofileno (10,11%) e o-cimeno (8,85%).

Tabela 4 - Composição química do óleo essencial extraído de folhas de alecrim pimenta (*L. sidoides*).

Componente	CG-MS		CG-DIC	
	IK ¹	IK ²	IK ³	Área (%)
α-Tujeno	933	930	938	1,08
α-Pino	941	939	947	0,60
Sabineno	980	975	984	0,91
β-Pino	984	979	990	0,32
Mirceno	993	990	996	1,70
Não Identificado	1011	–	1015	0,09
δ-3-Careno	1016	1011	1021	0,13
α-Terpineno	1022	1017	1027	1,27
O-Cimeno	1030	1026	1035	8,85
Limoneno	1034	1029	1039	0,54
1,8-Cineol	1037	1031	1043	1,66
β-(Z)-Ocimeno	1042	1037	1054	0,19
γ-Terpineno	1064	1059	1068	3,72
Não Identificado	1074	1070	1077	0,23
trans-hidrato de Sabineno	1105	1098	1105	0,26
Ipsdienol	1153	1145	1153	1,16
Borneol	1172	1169	1178	0,05
Terpinen-4-ol	1183	1177	1188	0,75
α-Terpineol	1196	1188	1193	0,14

continua

conclusão

Componente	CG-MS IK ¹	IK ²	CG-DIC IK ³	Área (%)
Timol, metil éter	1239	1232	1242	0,81
Timol	1295	1290	1300	60,19
E-Cariofileno	1423	1419	1434	10,11
Aromadendreno	1443	1441	1453	0,48
α-Humuleno	1457	1454	1468	0,48
9-epi-(E)-cariofileno	1465	1466	1475	0,10
γ-Gurjuneno	1480	1477	1488	0,11
Amorfa-4,7(11)-dieno	1484	1481	1491	0,28
Não Identificado	1491	–	1502	0,04
Biciclogermacreno	1498	1500	1510	2,19
γ-Cadineno	1517	1513	1527	0,14
δ-Cadineno	1527	1523	1535	0,25
Espatulenol	1581	1578	1592	0,26
Não Identificado	1586	–	1599	0,79
Não Identificado	1595	–	1608	0,12
TOTAL				100

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

Majolo *et al.* (2017) obtiveram resultados semelhantes, tendo como constituintes principais o timol (76,6%) e o orto-cimeno (6,3%). Veras *et al.* (2017; 2012) encontraram valores de timol de 84,9%.

Lima *et al.* (2011) identificaram como principais constituintes o carvacrol (31,68%), p -cimeno (19,58%), 1,8-cineol (9,26%) e o β -terpineno (9,21%). No presente estudo a presença de carvacrol não foi identificada, no entanto, é comum a presença em baixos níveis desse composto. Essa variação na produção de metabólitos secundários pode ser explicada por alterações ambientais ou genéticas, como por exemplo a idade da planta (SANTOS *et al.*, 2015).

4.1.3 Alfavaca cravo (*O. gratissimum*)

O óleo extraído das folhas de alfavaca cravo apresentaram como principais constituintes o eugenol (68,96%) e o 1,8-cineol (18,96%), dentre os dezoito compostos identificados nas análises cromatográficas (Tabela 5).

Tabela 5 - Composição química do óleo essencial extraído de folhas de Alfavaca cravo (*Ocimum gratissimum*).

Componente	CG-MS	CG-DIC		
	IK ¹	IK ²	IK ³	Área (%)
α-Pinenol	941	939	947	0,61
Sabineno	979	975	984	0,52
β-Pinenol	984	979	990	1,64
Mirceno	996	990	996	0,50
1,8-Cineol	1037	1031	1043	18,96
β-(Z)-Ocimeno	1041	1037	1054	0,33
γ-Terpineno	1065	1059	1068	0,08
Não identificado	1185	–	1187	0,18
γ-Terpineol	1199	1199	1199	0,47
Eugenol	1363	1359	1372	68,96
E-Cariofileno	1423	1419	1434	2,52
Não identificado	1433	–	1468	0,35
Não identificado	1465	–	1476	0,07
γ-Gurjuneno	1484	1477	1494	0,88
β-Selineno	1489	1490	1499	2,91
α-Selineno	1497	1498	1509	1,01
TOTAL				100,00

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

Esse resultado diverge de alguns estudos precedentes, Burt (2009) identificou como principais constituintes do óleo de *O. gratissimum* o γ -terpineno (21,9%), β -felandreno (21,1%), limoneno (11,4%) e timol (11,2%).

Já Silva (2009) encontrou valores de eugenol semelhantes aos encontrados neste trabalho, variando de 52,6 à 89,2 %, e γ -muuroleno (6,2- 35,3 %). O autor verificou ainda a composição química do óleo de acordo com a parte da planta destinada à extração, verificando que os óleos essenciais das inflorescências e talos tiveram seus rendimentos influenciados pela estação de coleta, e uma pequena variação no teor de eugenol, presente no óleo essencial das folhas.

4.1.4 Manjeriço (*Ocimum micranthum*)

As análises cromatográficas para o óleo obtido de manjeriço indicam a presença de vinte e dois compostos (Tabela 6), sendo como principal o Eugenol (62,83%) e secundários o e-cariofileno (8,83%), β -alasqueno (7,11%) e Elemicin (8,10%).

Tabela 6 - Composição química do óleo essencial extraído de folhas de manjeriço (*Ocimum micranthum*).

Componente	CG-MS		CG-DIC	
	IK ¹	IK ²	IK ³	Área (%)
1,8-Cineol	1038	1031	1043	1,42
β-(Z)-Ocimeno	1045	1037	1054	0,03
Não identificado	1111	–	1104	0,63
δ-Elemeno	1342	1338	1348	0,57
Eugenol	1363	1359	1372	62,83
β-Elemeno	1394	1390	1401	4,24
E-Cariofileno	1423	1419	1434	8,83
α-Humuleno	1457	1454	1468	1,82
9-epi-(E)-Cariofileno	1464	1466	1475	0,39
Não identificado	1478	–	1487	0,05
γ-Muuroleno	1484	1479	1494	0,53
β-Selineno	1489	1490	1499	0,91
β-Alasqueno	1498	1498	1510	7,11
α-Selineno	1507	1498	1517	1,15
β-Bisaboleno	1511	1505	1520	0,24
Não identificado	1521	–	1533	0,14
Elemicin	1561	1557	1566	8,10
Espatulenol	1581	1578	1583	0,06
Não identificado	1586	–	1593	0,27
Viridiflorol	1594	1587	1599	0,57
Não identificado	1660	–	1668	0,09
TOTAL				100

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

Charles *et al.* (1990) ao caracterizarem o óleo essencial obtido a partir das folhas de *O. micranthum*, observaram que o eugenol e 1,8-cineol foram os compostos majoritários. Sacchetti *et al.* (2004) também observaram o eugenol como composto majoritário (46,55 ± 5,11%), seguido da presença de β-cariofileno (11,94 ± 1,31%) e β-elemeno (9,06 ± 0,99%), este último observado neste estudo em menor proporção (4,24%), embora dentro do intervalo citado.

4.2 Atividade antifúngica dos óleos essenciais *in vitro*

De forma geral, os resultados indicam que todos os óleos essenciais interferiram no crescimento micelial dos isolados de *Fusarium* sp., diferindo de acordo com a concentração utilizada e o óleo testado.

4.2.1 Capim limão (*Cymbopogon citratus*)

O óleo essencial de capim limão apresentou a maior variação no crescimento micelial dos isolados *Fusarium* sp., diante das diferentes concentrações testadas (Tabela 7). A maior concentração (2000 $\mu\text{L.L}^{-1}$) foi a única capaz de inibir totalmente o crescimento do patógeno, apenas para o isolado LPPC 81. As concentrações de 1500 $\mu\text{L.L}^{-1}$ e 2000 $\mu\text{L.L}^{-1}$ não diferiram significativamente entre si para o isolado LPPC 81.

Tabela 7 - Médias do Índice de inibição do crescimento micelial (ICM %) de isolados de *Fusarium* sp. do mamão (LPPC 44, 68 e 81) com uso do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*.

Concentração do óleo ($\mu\text{L.L}^{-1}$)	Isolado (ICM %)		
	LPPC 44	LPPC 68	LPPC 81
0 (controle)	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
250	-10,17 ^a	-3,20 ^a	45,00 ^{bc}
500	-17,23 ^a	21,10 ^c	42,90 ^b
750	-0,13 ^a	8,66 ^b	30,60 ^{ab}
1000	-10,29 ^a	7,94 ^{ab}	35,60 ^{ab}
1500	0,49 ^a	24,46 ^c	81,60 ^{cd}
2000	-4,24 ^a	36,96 ^d	100,00 ^d
Desvio padrão	19,23	7,5	22,4
CV (%)	19,31	8,39	22,05

Médias seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem estaticamente entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade. Fonte: elaborada pela autora.

O óleo essencial não foi capaz de inibir o crescimento micelial do isolado LPPC 44 até a concentração de 2000 $\mu\text{L.L}^{-1}$, em algumas concentrações chegou a induzir o crescimento do patógeno. O óleo também foi pouco eficiente em relação ao isolado LPPC 68, obtendo o ICM% máximo de 36,96% na concentração máxima de óleo testada.

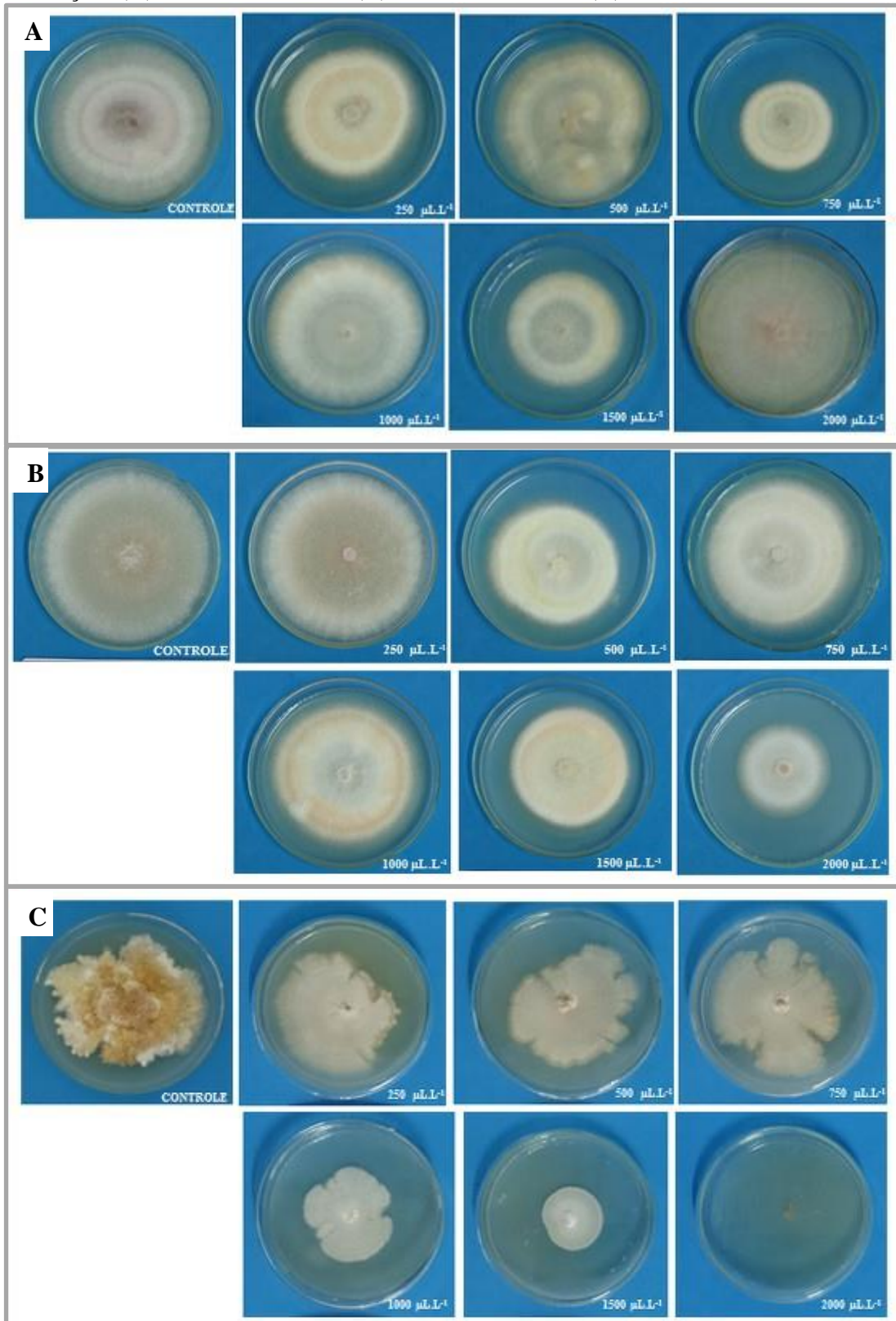
Regmi e Jha (2018) em estudo com diferentes óleos essenciais em diferentes concentrações observaram que o óleo essencial de *C. citratus* teve a atividade antifúngica mais eficaz no controle de *F. oxysporum* obtido do mamão, inibindo 100% do seu crescimento micelial a partir da concentração de 40000 $\mu\text{L.L}^{-1}$. Na concentração mais baixa (2500 $\mu\text{L.L}^{-1}$) e que mais se assemelha com o presente trabalho, o óleo inibiu 69,79% do crescimento micelial do patógeno. Isso indica que em concentrações mais altas a atividade antifúngica do óleo possivelmente seja mais eficiente no controle dos isolados testados.

Gonçalves *et al.* (2015) verificaram a ação antifúngica do óleo de capim limão na inibição do crescimento micelial de *S. rolfsii*, os autores obtiveram o melhor resultado de inibição na concentração de 300 $\mu\text{L.mL}^{-1}$. Guerra *et al.* (2000) sugeriu que as propriedades

antimicrobianas do óleo essencial de *C. citratus* estavam relacionadas à presença do citral, o mirceno, outro componente desse óleo não mostrou atividade antimicrobiana, mas quando combinada com o citral apresentaram efeito sinérgico.

É possível observar na Figura 6 uma mudança de coloração dos isolados, além do crescimento dos isolados em relação ao aumento da concentração do óleo no meio de cultura.

Figura 6 - Efeito do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* em diferentes concentrações ($0 \mu\text{L.L}^{-1}$ (controle), $250 \mu\text{L.L}^{-1}$, $500 \mu\text{L.L}^{-1}$, $750 \mu\text{L.L}^{-1}$, $1000 \mu\text{L.L}^{-1}$, $1500 \mu\text{L.L}^{-1}$ e $2000 \mu\text{L.L}^{-1}$) no crescimento micelial de três isolados de *Fusarium* sp. do mamão aos 15 dias de avaliação. (A) Isolado LPPC 44; (B) Isolado LPPC 68; (C) Isolado LPPC 81.



Fonte: elaborada pela autora.

4.2.2 Alecrim pimenta (*L. sidoides*)

O óleo apresentou total inibição do crescimento micelial do isolado LPPC 83 a partir da menor concentração testada de 250 $\mu\text{L.L}^{-1}$ (Tabela 8). O isolado LPPC 44 induziu total inibição do crescimento a partir de 1500 $\mu\text{L.L}^{-1}$, entretanto não diferiu significativamente a partir de 500 $\mu\text{L.L}^{-1}$. O isolado LPPC 68 teve seu crescimento micelial inibido totalmente em 750 e 2000 $\mu\text{L.L}^{-1}$, no intervalo entre estas concentrações apresentou pouco crescimento.

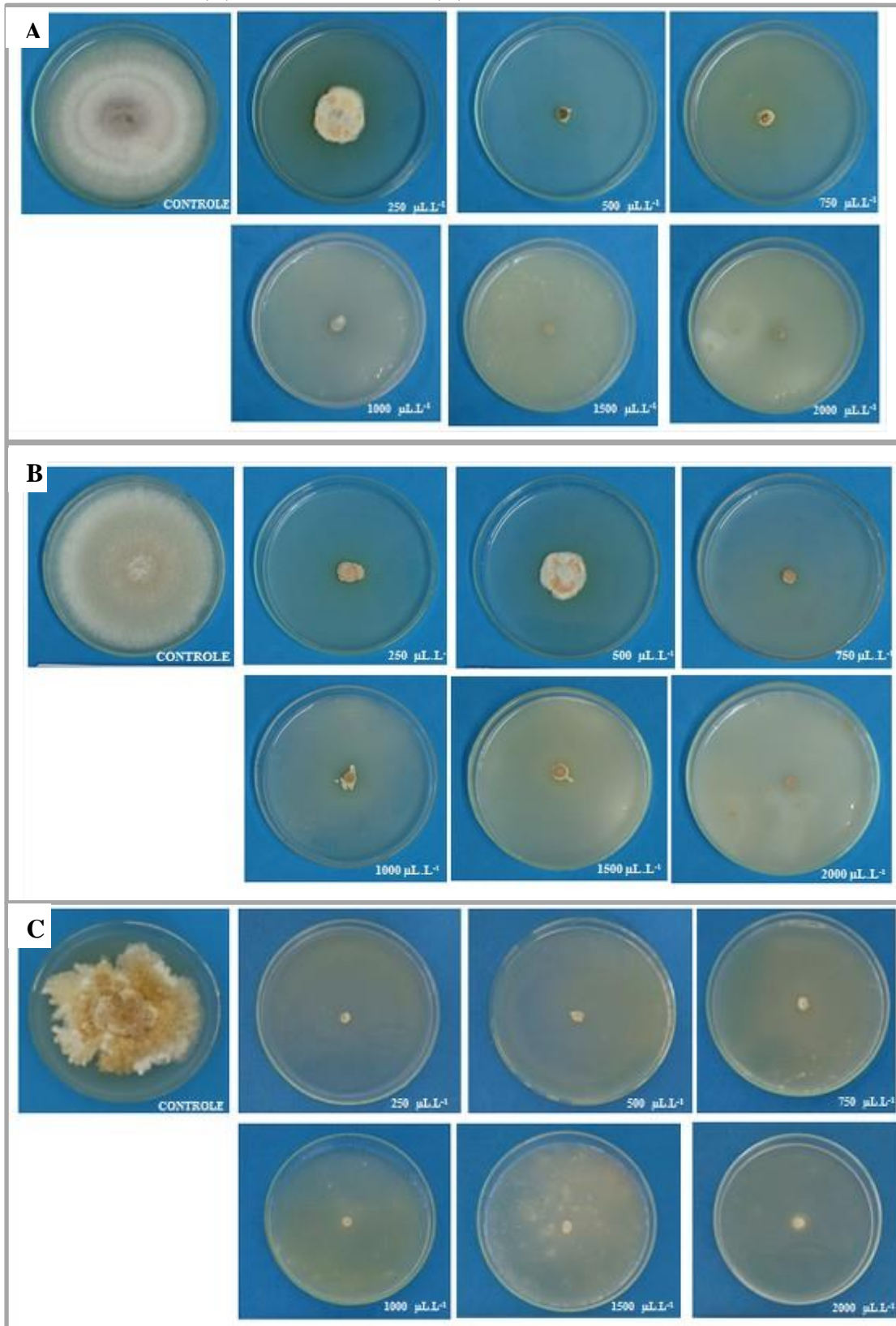
Tabela 8 - Médias do Índice de inibição do crescimento micelial (ICM %) de isolados de *Fusarium* sp. do mamão (LPPC 44, 68 e 81) com uso do óleo essencial de *Lippia sidoides*.

Concentração do óleo ($\mu\text{L.L}^{-1}$)	Isolado (ICM %)		
	LPPC 44	LPPC 68	LPPC 81
0 (controle)	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
250	46,17 ^b	86,35 ^c	100,00 ^b
500	89,62 ^c	72,14 ^b	100,00 ^b
750	87,41 ^c	100,00 ^d	100,00 ^b
1000	85,92 ^c	87,84 ^c	100,00 ^b
1500	100,00 ^{cd}	94,00 ^{cd}	100,00 ^b
2000	100,00 ^d	100,00 ^d	100,00 ^b
Desvio padrão	19,23	7,5	22,4
CV (%)	19,31	8,39	22,05

Médias seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem estaticamente entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade. Fonte: elaborada pela autora.

Observa-se que na medida em que a concentração do óleo aumenta, há a presença de sólidos no meio, justificados pela cristalização do timol, principal componente do óleo essencial de *L. sidoides* (Figura 7).

Figura 7 - Efeito do óleo essencial de *Lippia sidoides* em diferentes concentrações ($0 \mu\text{L.L}^{-1}$ (controle), $250 \mu\text{L.L}^{-1}$, $500 \mu\text{L.L}^{-1}$, $750 \mu\text{L.L}^{-1}$, $1000 \mu\text{L.L}^{-1}$, $1500 \mu\text{L.L}^{-1}$ e $2000 \mu\text{L.L}^{-1}$) no crescimento micelial de três isolados de *Fusarium* sp. do mamão aos 15 dias de avaliação. (A) Isolado LPPC 44; (B) Isolado LPPC 68; (C) Isolado LPPC 81.



Fonte: elaborada pela autora.

Diversos estudos têm obtido resultados favoráveis no controle *in vitro* de fitopatógenos com o uso desse óleo. Oliveira *et al.* (2016) em estudo no controle de antracnose da banana (*C. musae*) observaram que o extrato e óleo essencial de *L. sidoides* foi tão efetivo quanto o controle químico em inibir o crescimento do patógeno em 100 %, em todas as concentrações testadas.

Gonçalves *et al.* (2015), também observaram a total inibição do crescimento micelial *in vitro* de *R. solani* e *S. rolfsii* com o uso de *L. sidoides* à 400 µg mL⁻¹. Além disso, em teste com um dos constituintes majoritários, o carvacrol, verificou-se que este foi mais efetivo que o óleo essencial, havendo ausência de crescimento micelial de *R. solani* e de *S. rolfsii* na concentração de 200 µg mL⁻¹.

4.2.3 Alfavaca cravo (*Ocimum gratissimum*)

O óleo essencial de alfavaca cravo (*O. gratissimum*) inibiu totalmente o crescimento dos três isolados na concentração mais alta. Os isolado LPPC 44 e 68 apresentaram resultado significativamente igual a partir de 750 µL.L⁻¹. O isolado LPPC 81 teve seu crescimento inibido totalmente a partir de 500 µL.L⁻¹, e para a concentração mais baixa, de 250 µL.L⁻¹, obteve um percentual de ICM de 27,97%, diferindo estaticamente das demais concentrações (Tabela 9).

Tabela 9 - Médias do Índice de inibição do crescimento micelial (ICM %) de isolados de *Fusarium* sp. do mamão (LPPC 44, 68 e 81) com uso do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*.

Concentração do óleo (µL.L ⁻¹)	Isolado (ICM %)		
	LPPC 44	LPPC 68	LPPC 81
0 (controle)	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
250	1,28 ^a	14,88 ^b	27,97 ^a
500	74,11 ^b	55,68 ^c	100,00 ^b
750	86,25 ^{bc}	94,36 ^d	100,00 ^b
1000	81,82 ^{bc}	96,18 ^d	100,00 ^b
1500	86,02 ^{bc}	100,00 ^d	100,00 ^b
2000	100,00 ^c	100,00 ^d	100,00 ^b
Desvio padrão	19,23	7,5	22,4
CV (%)	19,31	8,39	22,05

Médias seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem estaticamente entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade. Fonte: elaborada pela autora.

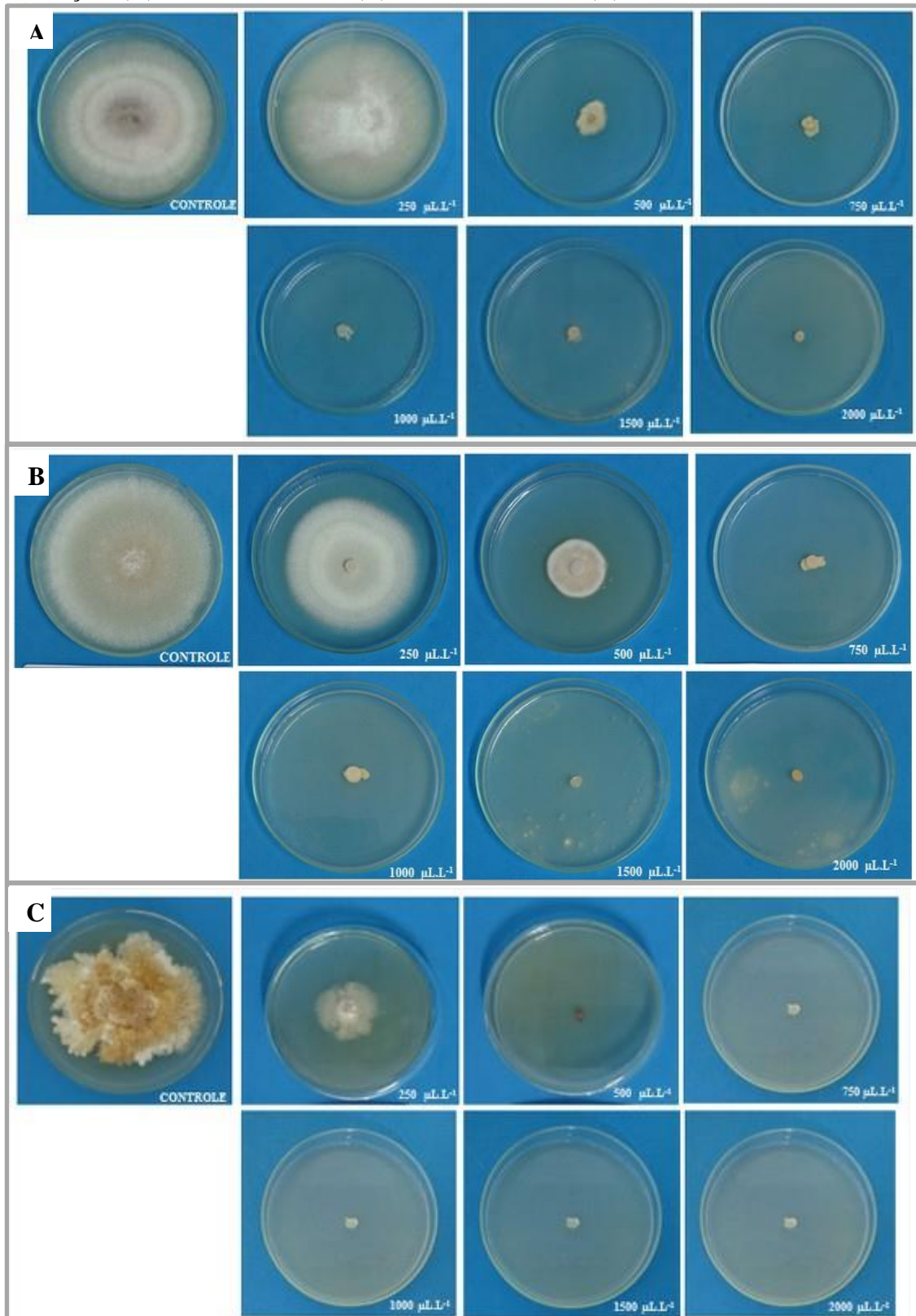
O eugenol, componente majoritário do óleo (68,96%), possui elevado potencial antimicrobiano, o que pode ser explicado pela natureza ácida do grupo hidroxila, que forma

uma ligação de hidrogênio com o centro ativo das enzimas dos microrganismos, prevenindo a ação enzimática do patógeno (BURT, 2004). Dessa forma, pode-se inferir que este composto é grande responsável pelos resultados obtidos neste estudo, não excluindo a possibilidade do efeito sinérgico entre os componentes presentes em menores concentrações no óleo essencial.

Por ter propriedades não mutagênicas e não cancerígenas, o eugenol é considerado como seguro pela Organização para Alimentação e Agricultura das Nações Unidas (RAJA *et al.*, 2015), o que o torna um interessante composto no que diz a respeito a utilização no controle de doenças pós colheita de frutos.

A medida em que a concentração do óleo aumenta, há o aumento da inibição do crescimento micelial dos isolados (Figura 8).

Figura 8 - Efeito do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* em diferentes concentrações ($0 \mu\text{L.L}^{-1}$ (controle), $250 \mu\text{L.L}^{-1}$, $500 \mu\text{L.L}^{-1}$, $750 \mu\text{L.L}^{-1}$, $1000 \mu\text{L.L}^{-1}$, $1500 \mu\text{L.L}^{-1}$ e $2000 \mu\text{L.L}^{-1}$) no crescimento micelial de três isolados de *Fusarium* sp do mamão aos 15 dias de avaliação. (A) Isolado LPPC 44; (B) Isolado LPPC 68; (C) Isolado LPPC 81.



Fonte: elaborada pela autora.

4.2.4 Manjericão (*Ocimum micranthum*)

O óleo essencial de manjericão também apresentou inibição total do crescimento de todos os isolados na concentração mais alta. O isolado LPPC 44 teve seu crescimento micelial inibido a partir de 750 $\mu\text{L.L}^{-1}$. Já o isolado LPPC 81 teve seu crescimento micelial inibido totalmente a partir da segunda concentração testada, de 500 $\mu\text{L.L}^{-1}$ e para a concentração mais baixa, de 250 $\mu\text{L.L}^{-1}$, inibiu cerca de 25,62% do seu crescimento micelial, sendo a única concentração a diferir estaticamente das outras (Tabela 10).

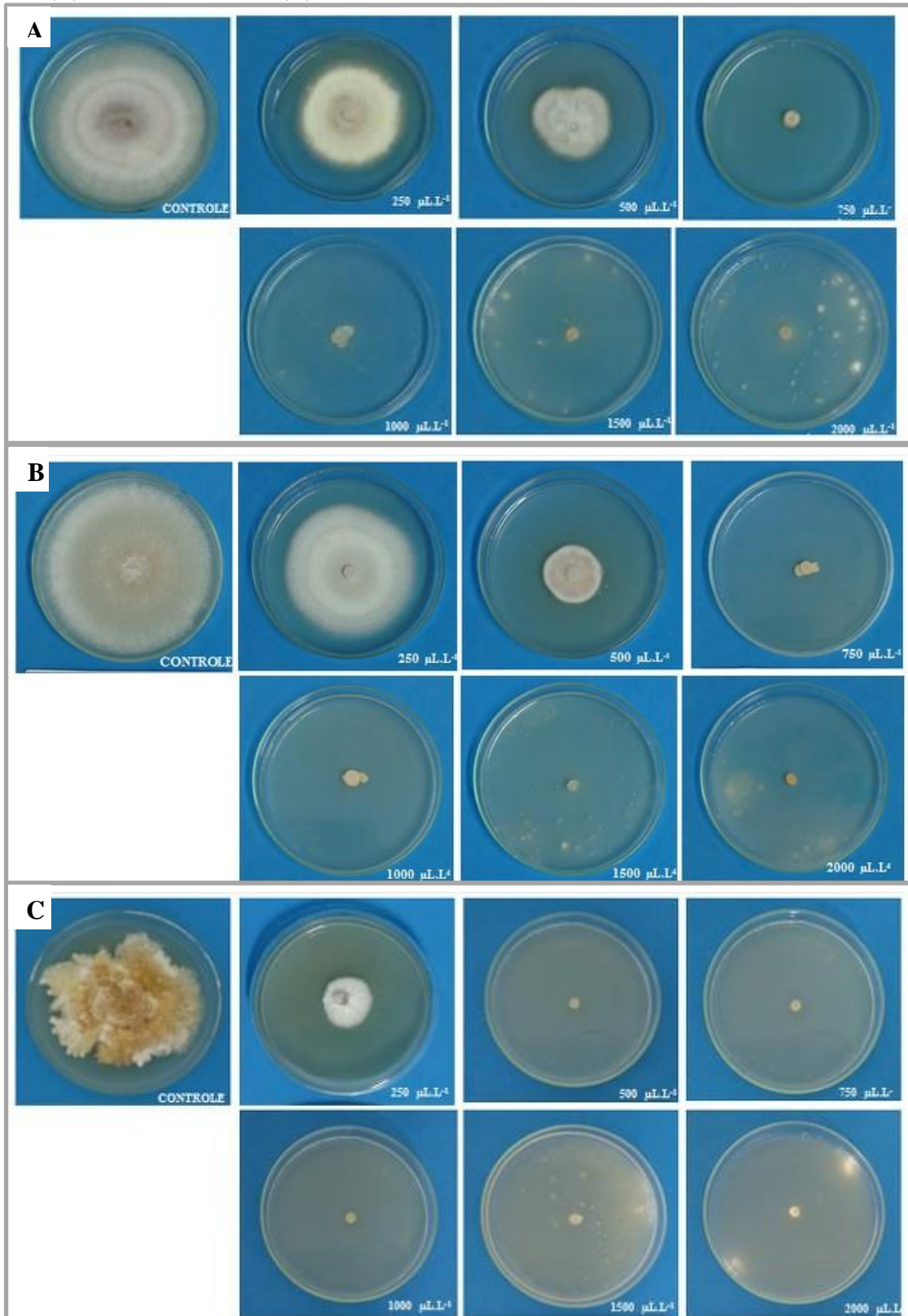
Tabela 10 - Médias do índice de inibição do crescimento micelial (ICM %) de isolados de *Fusarium* sp. do mamão (LPPC 44, 68 e 81) com uso do óleo essencial de *Ocimum micranthum*.

Concentração do óleo ($\mu\text{L.L}^{-1}$)	Isolado (ICM %)		
	LPPC 44	LPPC 68	LPPC 81
0 (controle)	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
250	-6,38 ^a	10,99 ^a	25,62 ^a
500	51,79 ^b	67,89 ^b	100,00 ^b
750	84,65 ^c	80,76 ^c	100,00 ^b
1000	82,67 ^c	90,00 ^c	100,00 ^b
1500	84,92 ^c	96,13 ^{cd}	100,00 ^b
2000	100,00 ^c	100,00 ^d	100,00 ^b
Desvio padrão	19,23	7,5	22,4
CV (%)	19,31	8,39	22,05

Médias seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem estaticamente entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade. Fonte: elaborada pela autora.

Observa-se o crescimento micelial dos isolados em função das diferentes concentrações do óleo destaca-se que a solidificação de cristais à medida em que a concentração de óleo aumenta (Figura 9) e a mudança na coloração do isolado, possivelmente em resposta ao estresse induzido pela ação do óleo. *F. oxysporum* e *F. sp. passiflora* apresentaram comportamento semelhante quando tratados com fungicidas, que induziram, antes do início do crescimento micelial uma mudança de coloração do meio de cultura para a cor salmão (BATISTA, 2002).

Figura 9 - Efeito do óleo essencial de *Ocimum micranthum* em diferentes concentrações ($0 \mu\text{L.L}^{-1}$ (controle), $250 \mu\text{L.L}^{-1}$, $500 \mu\text{L.L}^{-1}$, $750 \mu\text{L.L}^{-1}$, $1000 \mu\text{L.L}^{-1}$, $1500 \mu\text{L.L}^{-1}$ e $2000 \mu\text{L.L}^{-1}$) no crescimento micelial de três isolados de *Fusarium* sp do mamão. (A) Isolado LPPC 44; (B) Isolado LPPC 68; (C) Isolado LPPC 81.



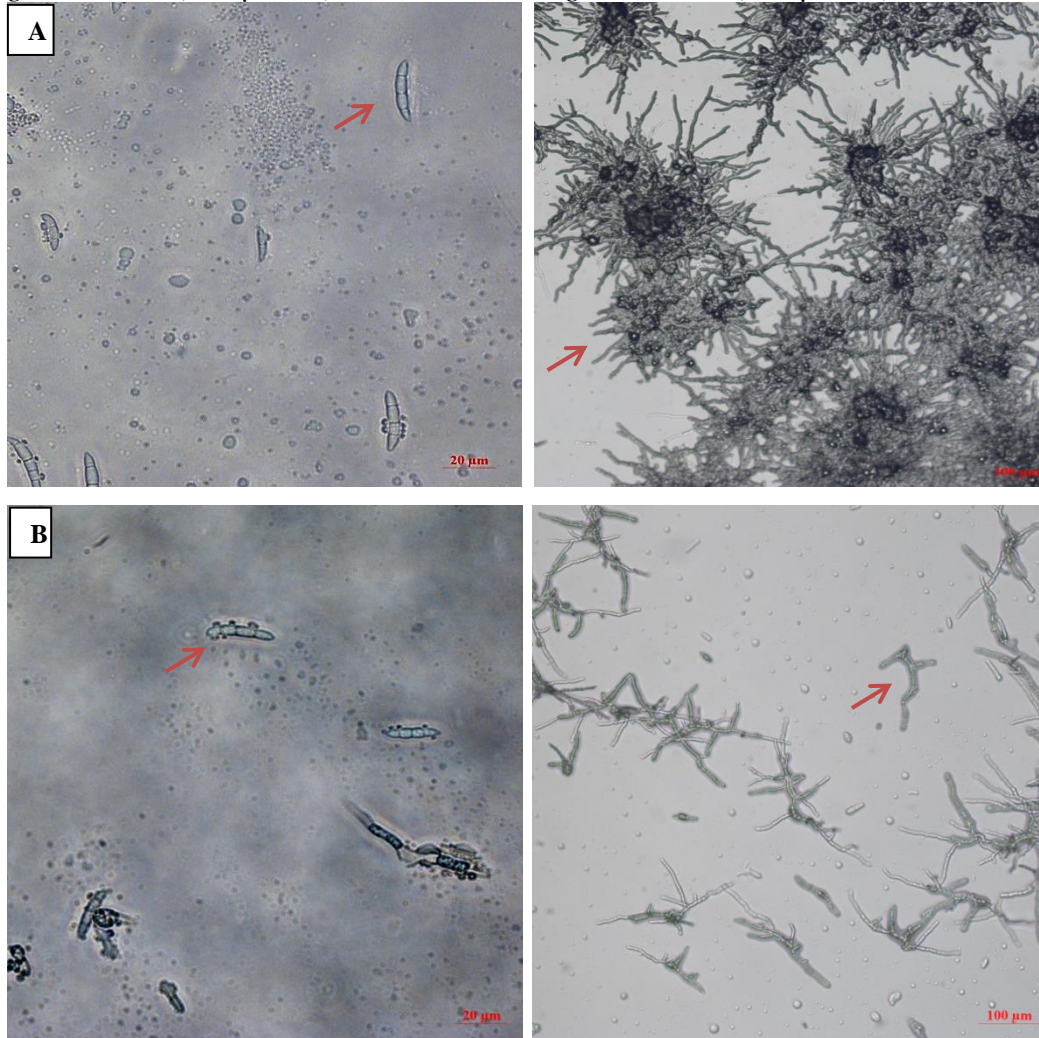
Fonte: elaborada pela autora.

4.3 Avaliação do efeito dos óleos essenciais em isolado de *Fusarium* sp. por microscopia ótica

Os resultados obtidos através das imagens de microscopia de luz para o isolado mais sensível aos tratamentos (LPPC 81) e os dois óleos em duas concentrações mais eficientes (*L. sidoides* em 250 $\mu\text{L.L}^{-1}$ e 500 $\mu\text{L.L}^{-1}$; *O. gratissimum* em 500 $\mu\text{L.L}^{-1}$ e 750 $\mu\text{L.L}^{-1}$) demonstram que no tratamento controle (apenas meio de cultura BDA), os conídios germinaram normalmente após 24 horas (Figura 10A), e no tempo zero apresentavam características morfológicas típicas do gênero *Fusarium* com conídios de formato fusóide a subulado e pontiagudos nas extremidades, com as paredes finas e três septos (LESLIE; SUMMERELL, 2008).

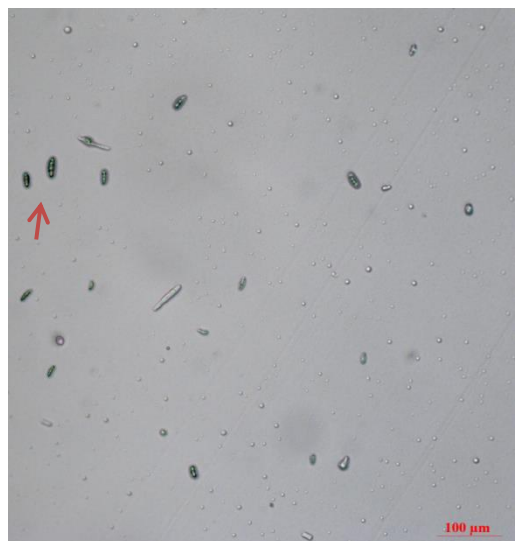
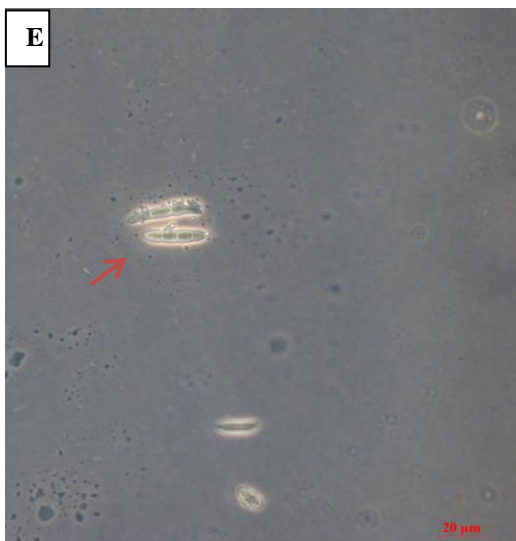
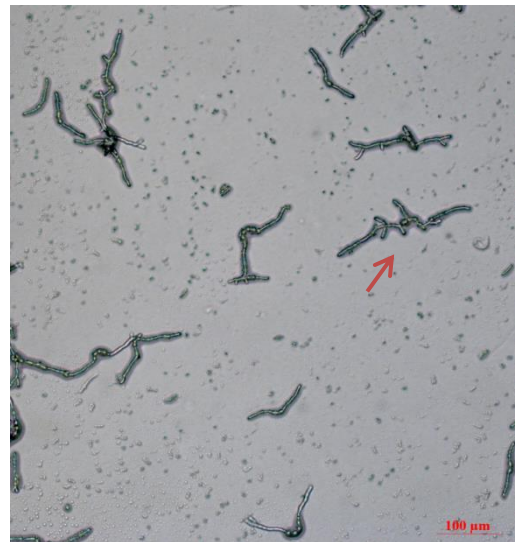
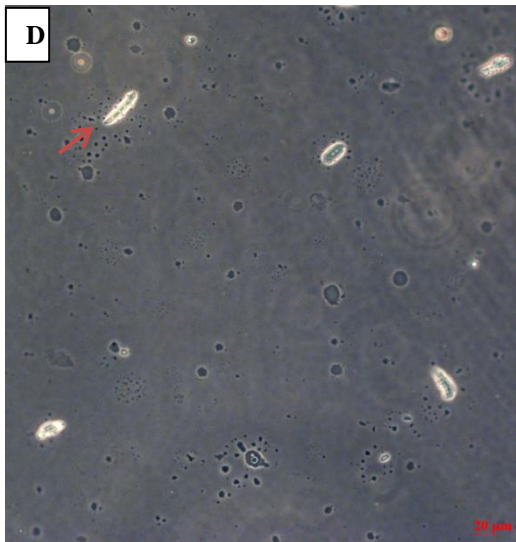
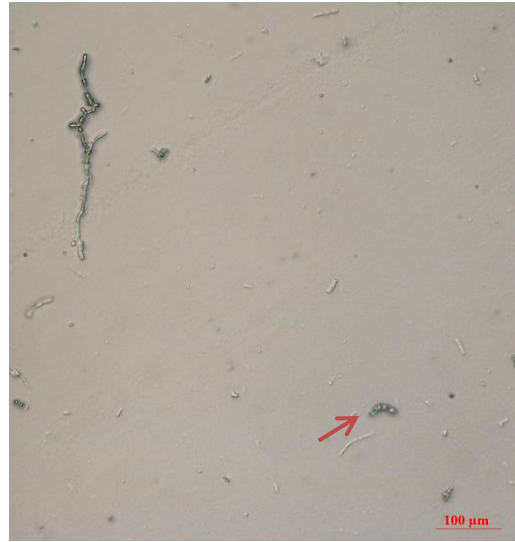
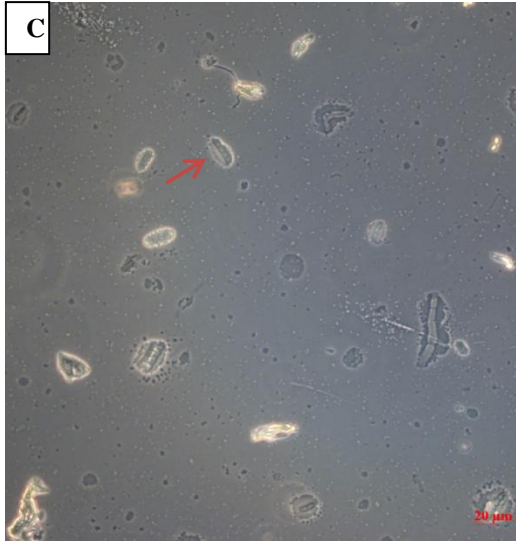
Porém, no restante dos tratamentos, especialmente nas concentrações mais altas dos óleos de *L. sidoides* e *O. gratissimum* (Figuras 10C e 10E), 24 horas após o tratamento, observa-se que essas células tiveram a germinação e o desenvolvimento micelial severamente prejudicados quando comparadas ao tratamento controle.

Figura 10 - Efeito dos óleos essenciais na germinação e desenvolvimento inicial de isolado (LPPC 81) de *Fusarium* sp., causador de podridão em mamão após 0 horas (coluna esquerda) e 24 horas (coluna direita), da aplicação do tratamento, onde A - Tratamento controle (BDA); B - BDA + *L. sidoides* (250 $\mu\text{L.L}^{-1}$); C - BDA + *L. sidoides* (500 $\mu\text{L.L}^{-1}$); D - BDA + *O. gratissimum* (500 $\mu\text{L.L}^{-1}$); e E - BDA + *O. gratissimum* (750 $\mu\text{L.L}^{-1}$).



Continua...

Continuação...



Fonte: elaborada pela autora.

De acordo com Sá *et al.* (2018) a grande maioria dos compostos aromáticos e fenólicos exerce seus efeitos antimicrobianos diretamente na membrana citoplasmática, provocando alterações na sua estrutura e funções, assim a ação antifúngica dos óleos pode estar diretamente ligada à atuação de componentes dos óleos essenciais na parede celular dos isolados.

Os compostos minoritários podem apresentar funções importantes na ação fungicida ou fungistática como a penetração na célula, atração lipofílica e hidrofílica, fixação na parede e membrana celulares (BAKKALI *et al.*, 2008).

Em estudo com o eugenol e o timol, compostos majoritários dos óleos essenciais de *O. gratissimum* e de *L. sidoides*, Ahmad *et al.* (2010) sugeriram que estes dois compostos podem exercer sua ação antifúngica através da inibição de bombas de efluxo (H⁺ATPase) na membrana celular fúngica, causando acidificação intracelular e posteriormente a morte, o que justifica em parte os resultados obtidos neste estudo, em que se observou a ação fungicida para o crescimento micelial e germinação do isolado.

5 CONCLUSÃO

Os óleos essenciais foram eficientes em inibir o crescimento micelial dos isolados de *Fusarium* sp., do mamão, sendo mais eficientes os óleos de *L. sidoides*, *O. gratissimum*, *O. micranthum* e *C. citratus*, respectivamente. Os isolados apresentaram respostas distintas para os mesmos tratamentos, sendo o isolado LPPC 81 o mais sensível.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, A.; KHAN, A.; YOUSUF, S.; KHAN, L. A.; MANZOOR, N. Proton translocating ATPase mediated fungicidal activity of eugenol and thymol. **Fitoterapia**, v. 81, n. 8, p. 1157-1162, 2010.
- AMORIM, A. R. S. **Caracterização de óleos essenciais vegetais e atividade antifúngica para patógenos de doenças na pós-colheita de mamão (*Carica papaya* L.)**. p. 56. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Ceará. 2017.
- Anuário Brasileiro da Fruticultura 2017**. Disponível em: <<http://www.editoragazeta.com.br/flip/anuario-fruticultura-2017/files/assets/basic-html/page59.html>>. Acesso em 18 de março de 2018.
- AQUINO, C. F.; SALES, N. D. L. P.; SOARES, E. P. S.; MARTINS, E. R. Ação e caracterização química de óleos essenciais no manejo da antracnose do maracujá. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 4, p. 1059-1067, 2012.
- Associação brasileira de produtores e exportadores de frutas e derivados - ABRAFRUTAS**. Disponível em: <http://www.abrafrutas.org/index.php?option=com_content&view=article&id=283:pais-deve-exportar-us-920-mi-em-frutas-neste-ano-preve-abrafrutas&catid=82&lang=pt-br&Itemid=496>. Acesso em 17 de março de 2018.
- BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils—a review. **Food and chemical toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.
- BARBOSA, L. C. A., PEREIRA, U. A., MARTINAZZO, A. P., MALTHA, C. R. Á., TEIXEIRA, R. R.; MELO, E. D. C. Evaluation of the chemical composition of Brazilian commercial *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf samples. **Molecules**, v. 13, n. 8, p. 1864-1874, 2008.
- BARRERA-NECHA, L. L.; BAUTISTA-BAÑOS, S.; FLORES-MOCTEZUMA, H. E.; ROJAS-ESTUDILLO, A. Efficacy of essential oils on the conidial germination, growth of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and control of postharvest diseases in papaya (*Carica papaya* L.). **Plant Pathology Journal**, v. 7, n. 2, p. 174-178, 2008.
- BASSOLÉ, I. H. N.; LAMIEN-MEDA, A.; BAYALA, B. O. L. C.; OBAME, L. C.; ILBOUDO, A. J.; FRANZ, C.; DICKO, M. H. Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils alone and in combination. **Phytomedicine**, v. 18, n. 12, p. 1070-1074, 2011.
- BATISTA, D. D. C.; DE OLIVEIRA, S. M.; TAVARES, S. C.; LARANJEIRA, D.; NEVES, R. A. F.; SILVA, R. L. Efeitos de fungicidas sobre o crescimento in vitro de *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* e a interferência com *Trichoderma* spp. **Embrapa Semiárido- Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2002.
- BAYALA, B.; BASSOLE, I. H.; MAQDASY, S.; BARON, S.; SIMPORE, J.; LOBACCARO, J. M. A. *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils have

cytotoxic effects on tumor cell cultures. Identification of citral as a new putative anti-proliferative molecule. **Biochimie**, v. 146, p. 1 – 180, 2018.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Brazilian essential oils: general view, developments and perspectives. **Quimica Nova**, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

BOSQUEZ-MOLINA, E.; RONQUILLO-DE JESÚS, E., BAUTISTA-BAÑOS, S; VERDE-CALVO, J.R.; MORALES-LÓPEZ J. Inhibitory effect of essential oils against *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* in stored papaya fruit and their possible application in coatings. **Postharvest Biology and Technology**, v. 57, n. 2, p. 132–137, 2010.

BOTEON, M. Desafios da fruticultura e o mercado de mamão. In: MARTINS, D.S. **Papaya Brasil: mercado e inovações tecnológicas para o mamão**. Vitória: Incaper, 2005. p. 15-21.

BURT, S.A. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223–253, 2004.

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 Mediciniais**, v. 11, n. 4, p. 399-406, 2009.

CARVALHO, A. F. U.; MELO, V. M. M.; CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I. L.; BANTIM, M. B.; RABELO, E. F. Larvicidal activity of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. against *Aedes aegypti* Linn. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 4, p. 569-571, 2003.

CASTRO, H.G. de; FERREIRA, F.A.; SILVA, D.J.H. da; MOSQUIM, P.R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários**. 2.ed. Viçosa: UFV, 2004. 113p.

CHARLES, D. J.; SIMON, J. E.; WOOD, K. V. Essential oil constituents of *Ocimum micranthum* Willd. **J. Agric. Food Chem**, v. 38, n. 1, p. 120-122, 1990.

COSTA, L. D. B.; CORRÊA, R. M.; CARDOSO, J. C. W.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K.; FERRI, P. H. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim-limão. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 4, p. 956-959, 2005.

COSTA, R. A.; CAVALCANTE, T. T. A.; DE MELO, C. T. V.; BARROSO, D. L. A. U.; MELO, H. M.; CARVALHO M. A. G.; JUNIOR, F. E. A. C. Antioxidant and antibacterial activities of essential oil of *Lippia sidoides* against drug-resistant *Staphylococcus aureus* from food. **African Journal of Biotechnology**, v. 17, n. 8, p. 232-238, 2018.

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.

COSTA-CARVALHO, R. R.; LINS, S. R. O.; OLIVEIRA, M. A.; FILHO, J. C.; LARANJEIRA, D.; BLANK, A. F.; ALVES, P. B. Effect of essential oils on in vitro control of *Lasiodiplodia theobromae*. In: **III International Symposium on Medicinal and Nutraceutical Plants and III Conference of National Institute of Science and 1198**. 2012. p. 41-46.

DANTAS, S. A.; OLIVEIRA, S. M.; MICHEREFF, S. J.; NASCIMENTO, L. C.; GURGEL, L. M.; PESSOA, W. R. L. S. Doenças fúngicas pós-colheita em mamões e laranjas comercializados na Central de Abastecimento do Recife. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 5, p. 528-533, 2003.

DE CASTRO, V. L. S. S. Uso de misturas de agrotóxicos na agricultura e suas implicações toxicológicas na saúde. **Embrapa Meio Ambiente-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2009.

DE SÁ, J. P. N.; NETO, O. L.S.; SANTOS, C. L. A. A.; GADELHA, H. S.; ALENCAR, M. C. B.; ALENCAR ROBERTO, S. B. O uso do eugenol como agente antimicrobiano para agroindústria. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, v. 12, n. 2, 2018.

DEMARTELAERE, A. C. F.; NASCIMENTO, L. C. D.; GUIMARÃES, G. H. C., SILVA, J. A. D.; LUNA, R. G. D. Elicitors on the control of anthracnose and post-harvest quality in papaya fruits. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 47, n. 2, p. 211-217, 2017.

DI STASI, L. C.; OLIVEIRA, G. P.; CARVALHAES, M. A.; QUEIROZ-JUNIOR, M.; TIEN, O. S.; KAKINAMI, S. H.; REIS, M. S. Medicinal plants popularly used in the Brazilian Tropical Atlantic Forest. **Fitoterapia**, v. 73, n. 1, p. 69-91, 2002.

DIOP, S. M.; GUÈYE, M. T.; NDIAYE, I.; DIOP, M. B.; THIAM, A.; FAUCONNIER, M. L.; LOGNAY, G. Study of the chemical composition of essential oils and floral waters of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (Poaceae) from Senegal. **International Journal of Biological and Chemical Sciences**, v. 11, n. 4, p. 1884-1892, 2017.

DROOGENBROECK, B. V.; BREYNE, P.; GOETGHEBEUR, P.; ROMEIJN-PEETERS, E.; KYNDT, T.; GHEYSEN, G. AFLP analysis of genetic relationships among papaya and its wild relatives (Caricaceae) from Ecuador. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 105, n. 2-3, p. 289-297, 2002.

EDRIS, A. E. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. **Phytotherapy research**, v. 21, n. 4, p. 308-323, 2007.

Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura - FAO. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#home>>. Acesso em 22 de março de 2018.

FARIAS, A. R. N.; OLIVEIRA, A. M. G.; OLIVEIRA, J. D.; DANTAS, J. L. L.; OLIVEIRA, M. D. A.; MEDINA, V. M.; CORDEIRO, Z. J. M. **A cultura do mamão**. Embrapa-SPI; Cruz das Almas: Embrapa-CNPMPF, p.11, 1994.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. **Reunião anual da região brasileira da sociedade internacional de biometria**, v. 45, n. 2000, p. 235, 2000.

FERREIRA, T. P. S.; MOURÃO, D. D. S. C.; SANTOS, G. R., GUIMARÃES, L. G. G., PIRES, E. C. F.; SANTOS, W. F.; AGUIAR, R. W. S. Fungistatic activity of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. against *Curvularia lunata*. **African Journal of Agricultural Research**, v. 13, n. 14, p. 704-713, 2018.

FREITAS, R. V. S.; DE SOUZA, P. A.; SENHOR, R. F.; MOURA, C. F. H.; DA COSTA, F. B. Armazenamento pós-colheita de frutos do mamoeiro recobertos com extratos das folhas e frutos do Nim. **Revista Caatinga**, v. 31, n. 2, p. 290-296, 2018.

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

GUERRA, M. J. M.; BADELL, J. B.; ALBAJES, A. R. R.; PÉREZ, H. B.; VALENCIA, R. M., AZCUY, A. L. Evaluación toxicológica aguda de los extractos fluidos al 30 y 80% de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (caña santa). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 5, n. 3, p. 97-101, 2000.

HAILMI, M. S.; WAHIDA, W. N.; BADALUDDIN, N. A.; ABDULLAH, T. A.; AZIZ, Z. F. A.; KADIR, J. Potential of *Pseudomonas* sp.(UniSZA-MKB10) and *Bacillus* spp.(UniSZA-BK3, UniSZA-BK4 and UniSZA-DA) as Biological Control agent for controlling anthracnose disease of *Carica papaya* L. **Journal Of Agrobiotechnology**, v. 8, n. 2, p. 64-76, 2017.

HASAN, M. F.; ISLAM, M. A.; SIKDAR, B. Biological Control of bacterial leaf spot disease of papaya (*Carica papaya*) through antagonistic approaches using medicinal plants extracts and soil bacteria. **International Journal Pure App. Biosci**, v. 6, n. 1, p. 1-11, 2018.

HOLANDA, C. A. L.; ALBUQUERQUE, U. P. El género *Ocimum* L.(Lamiaceae) en el nordeste del Brasil. In: **Anales del Jardín Botánico de Madrid**. Real Jardín Botánico, p. 43-64, 1998.

IBGE - **Produção Agrícola Municipal**, 2016. Disponível em: <www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9117-producao-agricola-municipal-culturas-temporarias-e-permanentes>. Acesso em 10 de junho de 2018.

ISTÉRIO, D. **Manual de perdas pós-colheita em frutos e hortaliças**. p. 8, 1997.

JÚNIOR, I. T. S., SALES, N. L. P., MARTINS, E. R.. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. **Biotemas**, v. 22, n. 3, p. 77-83, 2009.

KAMINSKI, T. F. A. **Efeitos genotóxico e citotóxico ex vivo da Micotoxina fumonisina b1 em leucócitos humanos**. Tese de doutorado. 233 f. Universidade de São Paulo. 2017.

- KASALI, A. A.; OYEDEJI, A. O.; ASHILOKUN, A. O. Volatile leaf oil constituents of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 16, n. 5, p. 377-378, 2001.
- LACOSTE, E.; CHAUMONT, J. P.; MANDIN, D.; PLUMEL, M. M.; MATOS, F. J. Antiseptic properties of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. Application to the cutaneous microflora. In: **Annales pharmaceutiques francaises**, v. 54, n. 5, p. 228-230, 1996.
- LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **The *Fusarium* laboratory manual**. John Wiley Sons, 2008.
- LI, X.; ZHU, X.; MAO, J.; ZOU, Y.; FU, D.; CHEN, W.; LU, W. Isolation and characterization of ethylene response factor family genes during development, ethylene regulation and stress treatments in papaya fruit. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 70, p. 81-92. 2013.
- LIMA, R. K.; CARDOSO, M. D. G.; MORAES, J. C.; CARVALHO, S. M.; RODRIGUES, V. G.; GUIMARÃES, L. G. L. Chemical composition and fumigant effect of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and monoterpenes against *Tenebrio molitor* (L.) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 4, p. 664-671, 2011.
- LOPES, L. F.; CRUZ, A. F.; BARRETO, M. L. D. A.; VASCONCELOS, T. M. M. D.; BLUM, L. E. B. Post-harvest treatment with Ca-phosphite reduces anthracnose without altering papaya fruit quality. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 93, n. 3, p. 272-278, 2018.
- LUCENA, C. C. de. **Polos de produção de mamão no Brasil**. Documentos 217. Embrapa Mandioca e Fruticultura. 2016. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/154702/1/DOC-217-Publica-056-15-Cicero.pdf>>. Acesso em 10 de junho de 2018.
- MAJOLO, C.; ROCHA, S. I. B.; CHAGAS, E. C.; CHAVES, F. C. M.; BIZZO, H. R.. Chemical composition of *Lippia* spp. essential oil and antimicrobial activity against *Aeromonas hydrophila*. **Aquaculture Research**, v. 48, n. 5, p. 2380-2387, 2017.
- MATOS, A. P. de; CORDEIRO, Z. J. M.; HADDAD, F. Fusários em frutíferas. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura. Anais... Bento Gonçalves, 2012.
- MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, p. 7-14, 2009.
- NASCIMENTO, D. M. D. **Efeito do tratamento de sementes de pimentão com óleos essenciais sobre o controle de *Colletotrichum gloeosporioides* e o potencial fisiológico das sementes**, p. 53. Dissertação de mestrado. Faculdade de Ciências Agrônômicas. 2017.
- NERY-SILVA, F. A.; MACHADO, J. D. C.; LIMA, L.; RESENDE, M. Controle químico da podridão peduncular de mamão causada por *Colletotrichum gloeosporioides*. **Ciência Agrotécnica**, v. 25, n. 3, p. 519-524, 2001.

OLIVEIRA, A. P.; SANTOS, A. A.; SANTANA, A. S.; LIMA, A. P. S.; MELO, C. R.; SANTANA, E. D.; BACCI, L. Essential oil of *Lippia sidoides* and its major compound thymol: Toxicity and walking response of populations of *Sitophilus zeae* (Coleoptera: Curculionidae). **Crop Protection**, v. 112, p. 33-38, 2018. Disponível em <<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.05.011>>. Acesso em 4 de maio de 2018.

OLIVEIRA, E. S. D.; VIANA, F. M. P.; MARTINS, M. V. V. Alternatives to fungicides in the control of banana anthracnose. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 4, p. 340-350, 2016.

OLIVEIRA, J. C. M.; PESSOA, M. N. G.; PINHEIRO, P. L. Ação antifúngica do alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) sobre *Colletotrichum gloeosporioides* e *Sclerotium rolfsii* in vitro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 23, p. 265, 1998.

OLIVEIRA, P. D. L.; OLIVEIRA, K. Á. R.; VIEIRA, W. A. S.; CÂMARA, M. P. S.; SOUZA, E. L. Control of anthracnose caused by *Colletotrichum* species in guava, mango and papaya using synergistic combinations of chitosan and *Cymbopogon citratus* (DC ex Nees) Stapf. essential oil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 266, p. 87-94, 2018.

OLIVEIRA, S. D.; TERAPO, D.; DANTAS, S. A. F.; TAVARES, S. C. C. H. Patologia pós-colheita: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais. **Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica**, 2006.

ONAWUNMI, G. O.; YISAK, W.; OGUNLANA, E. O. Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 12, n. 3, p. 279-286, 1984.

PASSOS, M. G.; CARVALHO, H.; WIEST, J. M. Inibição e inativação in vitro de diferentes métodos de extração de *Ocimum gratissimum* L. ("alfavacão", "alfavaca", "alfavaca-cravo") Labiatae (Lamiaceae), frente a bactérias de interesse em alimentos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 1, p. 71-78, 2009.

PERES, A. P.; MACHADO, J. D. C., CHITARRA, A. B., LIMA, L. D. O. Perfil enzimático de fungos associados à podridão peduncular do mamão. **Ciência Agropecuária**, v. 24, p. 295-299, 2000.

PERKINS, D. **How to preserve stocks**. Post. McC, DDP revision, 2005.

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. Embrapa Agroindústria Tropical - **Comunicado Técnico**, v. 136, 2008.

PINHO, J. P. M.; SILVA, A. S. B.; PINHEIRO, B. G.; SOMBRA, I.; BAYMA, J. D. CD; LAHLOU, S.; MAGALHÃES, P. J. C. Antinociceptive and antispasmodic effects of the essential oil of *Ocimum micranthum*: potential anti-inflammatory properties. **Planta medica**, v. 78, n. 07, p. 681-685, 2012.

RAJA, M. R. C.; SRINIVASAN, V.; SELVARAJ, S.; MAHAPATRA, S. K. Versatile and synergistic potential of eugenol: a review. **Pharm Anal Acta**, v. 6, n. 5, p. 367, 2015.

REGMI, S.; JHA, S. K. Antifungal activity of plant essential oils against *Fusarium oxysporum* Schlecht. and *Aspergillus niger* Van Tiegh. from papaya. **International Journal of Current Trends in Science and Technology**, v. 8, n. 1, p. 201-204, 2018.

REZENDE, J. A. M.; FANCELLI, M. I.; KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Doenças do mamoeiro** (*Carica papaya* L.). p. 486-496, 1997.

SACCHETTI, G., MEDICI, A., MAIETTI, S., RADICE, M., MUZZOLI, M., MANFREDINI, S.; 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.

SÁNCHEZ, I. C.; LÓPEZ, A. C.; GARCÍA, M. V.; YAHIA, E. M. The effect of antifungal hot-water treatments on papaya postharvest quality and activity of pectinmethylesterase and polygalacturonase. **Journal of Food Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 101-107, 2013.

SANTOS, A. S.; ALVES, S. D. M.; FIGUEIREDO, F. J. C.; DA ROCHA NETO, O. G. Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório. **Embrapa Amazônia Oriental - Comunicado Técnico**. 2004.

SANTOS, C. P.; OLIVEIRA, T. C.; PINTO, J. A. O.; FONTES, S. S.; CRUZ, E. M. O.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; 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.

SARKHOSH, A.; SCHAFFER, B., VARGAS, A. I., PALMATEER, A. J., LOPEZ, P., SOLEYMANI, A., FARZANEH, M. Antifungal activity of five plant-extracted essential oils against anthracnose in papaya fruit. **Biological Agriculture & Horticulture**, v. 34, n. 1, p. 18-26, 2018.

SEBRAE. **Cenários prospectivos: a fruticultura brasileira em 2018**. Disponível em: <[http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/e93e6e44c0b1ec9bed5f9ed186ab6b7e/\\$File/6083.pdf](http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/e93e6e44c0b1ec9bed5f9ed186ab6b7e/$File/6083.pdf)>. Acesso em: 17 de março de 2018.

SEBRAE. **O cultivo e o mercado do mamão**. Disponível em <<http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-cultivo-e-o-mercado-do-mamao,937a9e665b182410VgnVCM100000b272010aRCRD>>. Acesso em 5 de abril de 2018.

SILVA, A. C. D.; SALES, N. D. L. P.; ARAÚJO, A. V. D.; CALDEIRA JÚNIOR, C. F. Efeito in vitro de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz: isolado do maracujazeiro. **Ciência e agrotecnologia**, v. 33, p. 1853-1860, 2009.

SILVA, L. D. L. **Chemical composition and biological activities of *Ocimum gratissimum* L.** 2009. 165 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

SNOWDEN, A. L. **Post-Harvest Diseases and Disorders of Fruits and Vegetables: Volume 1: General Introduction and Fruits**, p. 140, CRC Press, 2008.

SUZUKI, M. S.; ZAMBOLIM, L.; LIBERATO, J. R. Progresso de doenças fúngicas e correlação com variáveis climáticas em mamoeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 2, p. 167-177, 2007.

TCHOUMBOUGNANG, F.; ZOLLO, P. A.; DAGNE, E.; MEKONNEN, Y. In vivo antimalarial activity of essential oils from *Cymbopogon citratus* and *Ocimum gratissimum* on mice infected with *Plasmodium berghei*. **Planta medica**, v. 71, n. 1, p. 20-23, 2005.

VERAS, H. N.; RODRIGUES, F. F.; BOTELHO, M. A.; MENEZES, I. R.; COUTINHO, H. D.; COSTA, J. G. Enhancement of aminoglycosides and β -lactams antibiotic activity by essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and the Thymol. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. 2790-2795, 2017.

VERAS, H. N.; RODRIGUES, F. F.; COLARES, A. V.; MENEZES, I. R.; COUTINHO, H. D.; BOTELHO, M. A.; COSTA, J. G. Synergistic antibiotic activity of volatile compounds from the essential oil of *Lippia sidoides* and thymol. **Fitoterapia**, v. 83, n. 3, p. 508-512, 2012.

VIANA, F.; OLIVEIRA, E. S., GOMES PESSOA, M. N., MARTINS, M. Inibição in vitro de *Colletotrichum Musae*, agente da antracnose da banana, por meio de agentes vegetais, biológicos e químicos. **Embrapa Agroindústria Tropical- Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, 2012.

VIEIRA, R. F.; GRAYER, R. J.; PATON, A.; SIMON, J. E. Genetic diversity of *Ocimum gratissimum* L. based on volatile oil constituents, flavonoids and RAPD markers. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, n. 3, p. 287-304, 2001.

VIEIRA, R. F.; SIMON, J. E. Chemical characterization of basil (*Ocimum* spp.) found in the markets and used in traditional medicine in Brazil. **Economic botany**, v. 54, n. 2, p. 207-216, 2000.

WOLFFENBÜTTEL, A. N. **Base da química dos óleos essenciais e aromaterapia: abordagem técnica e científica**. São Paulo: Roca, 2010. 292 p.

ZILLO, R. R. **Óleo essencial associado à película de carboximetilcelulose no controle da antracnose e seu efeito na vida útil de mamão (*Carica papaya* L.)**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, p. 60, 2017.