



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA E FÍSICO-QUÍMICA
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA

MARIA ELCIA FRANCO DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
CAPIM-LIMÃO (*Cymbopogon flexuosus*) CONTRA FUNGOS FITOPATOGÊNICOS**

FORTALEZA

2023

MARIA ELCIA FRANCO DA SILVA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
CAPIM-LIMÃO (*Cymbopogon flexuosus*) CONTRA FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Coordenação do Curso de Bacharelado em
Química da Universidade Federal do Ceará,
como requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Química com Habilitação
Industrial.

Orientadora Didático-pedagógica: Prof.
Dra. Otília Deusdênia Loiola Pessoa.

Orientadora Profissional: Dra. Natália
Florêncio Martins.

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S581a Silva, Maria Elcia Franco da.
Avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*) contra fungos fitopatogênicos / Maria Elcia Franco da Silva. – 2023.
55 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Química, Fortaleza, 2023.

Orientação: Profa. Dra. Otilia Deusdênia Loiola Pessoa.
Coorientação: Profa. Dra. Natália Florêncio Martins.

1. *Cymbopogon flexuosus*. 2. Óleo essencial. 3. Atividade antifúngica. 4. *Lasiodiplodia caatinguensis*. I. Título.

CDD 540

MARIA ELCIA FRANCO DA SILVA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
CAPIM-LIMÃO (*Cymbopogon flexuosus*) CONTRA FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Coordenação do Curso de Bacharelado em
Química da Universidade Federal do Ceará,
como requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Química com Habilitação
Industrial.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Otília Deusdênia Loiola Pessoa (Orientador Didático-Pedagógico)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Natália Florêncio Martins (Orientador Profissional)
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Agroindústria Tropical)

Me. Francisco Acácio de Sousa (Examinador externo)
Mestre em Sociobiodiversidade e Tecnologias Sustentáveis (Unilab)

Dra. Fabiana Rodrigues da Silva (Examinador externo)
Doutora em Fitotecnia (UFERSA)
Empresa Krilltech

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer primeiramente à minha mãe, Risalva, e honrar a memória do meu amado pai, José, que, mesmo não estando fisicamente presente, é uma presença constante em meu coração e nas conquistas que alcanço.

Também quero agradecer aos amigos que fiz na UFC. Nossas conversas, estudos e até mesmo os momentos descontraídos tornaram essa experiência universitária ainda mais especial. Agradeço por cada risada, cada conselho e por estarem ao meu lado, fazendo desses anos uma fase inesquecível.

Também gostaria de agradecer à minha orientadora pedagógica, a professora Otília Deusdênia Loiola Pessoa. Seu apoio, orientação e dedicação foram essenciais para o meu crescimento acadêmico e pessoal durante este período. Suas orientações foram fundamentais para o sucesso deste trabalho, e sou imensamente grata por toda a ajuda, paciência e incentivo.

Gostaria de estender meus agradecimentos à minha orientadora profissional, a Dra. Natália Florêncio Martins. Sua orientação e experiência foram fundamentais para o desenvolvimento do meu trabalho. Agradeço por compartilhar seus conhecimentos valiosos, contribuindo significativamente para o sucesso deste projeto.

Quero também agradecer à Fabiana e Acácio, que colaboraram de forma excepcional no decorrer desta pesquisa laboratorial, além de aceitarem o convite para serem integrantes da banca examinadora. Agradeço sinceramente pela valiosa orientação e amizade, além do empenho dedicado à ajuda e orientação deste trabalho.

Agradeço também a Embrapa pois lá pude exercer na prática os conhecimentos adquiridos durante minha formação acadêmica, proporcionando uma experiência gratificante em laboratório. Além disso, não posso deixar de agradecer calorosamente à dedicada equipe do Laboratório de Fitopatologia. Cada membro desta equipe foi incrivelmente solícito e acolhedor, transformando meu período de estágio em um tempo de aprendizado excepcional, tanto do ponto de vista acadêmico quanto profissional.

Por último, gostaria de agradecer aos integrantes do LAFIPLAM II e do bioMASS. Expresso minha profunda gratidão aos amigos incríveis de ambos os grupos de pesquisa, que foram essenciais em meu primeiro contato com o ambiente de laboratório. Suas orientações, paciência e amizade tornaram essa experiência desafiadora não apenas educativa, mas também extremamente enriquecedora. Agradeço por compartilharem seus conhecimentos e por tornarem cada dia no laboratório uma jornada empolgante e motivadora.

RESUMO

O Reino Fungi, caracterizado por uma vasta diversidade de espécies, desempenha um papel fundamental nos ecossistemas naturais, destacando-se nas indústrias alimentícia e farmacêutica. Contudo, algumas espécies fúngicas apresentam efeitos fitopatogênicos, tornando desafiadores os estudos voltados para o controle de doenças na agricultura. Diante da prevalência do uso de fungicidas sintéticos e seus efeitos adversos, torna-se imperativo explorar alternativas sustentáveis, como a utilização de produtos naturais, incluindo os óleos essenciais com potencial fungicida. Nesse contexto, este estudo visa avaliar a eficácia antifúngica do óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* frente às espécies fúngicas *Colletotrichum musae*, *Fusarium pallidoroseum* e *Lasiodiplodia caatinguensis*. Os ensaios foram realizados em triplicata, sendo cada repetição composta por 4 placas de Petri. Os fungos foram inoculados em meio batata dextrose ágar (BDA) na presença de quatro concentrações do óleo essencial (0,125 ; 0,25 ; 0,5 e 1 mL/L), tendo sido estabelecidos controles positivo, com fungicida a base de tiabendazol (Tecto®SC) com concentração de 0,125 mL/L, e negativo, com fungo inoculado somente no meio de cultura (BDA). A cada 24 horas eram feitas avaliações do halo de crescimento dos fungos. Para calcular a porcentagem de inibição, foi aplicada a fórmula de Edington. As concentrações de 1 mL/L para os fitopatógenos *C. musae* e *F. pallidoroseum* inibiram integralmente seus micélios em todas as repetições, já para o fitopatógeno *L. caatinguensis*, observou-se inibição integral em duas das repetições, mas, cerca de 97% na outra repetição. Baseado na composição química do óleo essencial do capim-limão, associou-se a atividade antifúngica ao citral, monoterpene constituído por dois aldeídos isômeros, o qual apresenta atividade antifúngica frente à várias espécies de fungos. Além disso, com base em informações da literatura, discutiu-se possíveis formas de atuação do citral que lhe confere propriedades antifúngicas. Vale destacar que não foi encontrado nenhum estudo sobre a atividade antifúngica deste composto frente ao *L. caatinguensis*.

Palavras-chave: *Cymbopogon flexuosus*; óleo essencial; atividade antifúngica; *Lasiodiplodia caatinguensis*.

ABSTRACT

The fungi kingdom, characterized by a large diversity of species, plays an important role in natural ecosystems. However, some fungal species have phytopathogenic effects, making studies to control diseases, particularly, in agriculture challenging. With the prevalence of synthetic fungicide uses and their adverse effects, it is imperative to explore sustainable alternatives, such as the use of natural products, including essential oils many of which with fungicidal potential. In this context, this study aimed to evaluate the antifungal efficacy of *Cymbopogon flexuosus* essential oil against the fungal species *Colletotrichum musae*, *Fusarium pallidoroseum*, and *Lasiodiplodia caatinguensis*. The biological assays were carried out in triplicate, with each repetition consisting of 4 Petri dishes. The fungi were inoculated on potato dextrose agar (PDA) medium in the presence of four concentrations of the essential oil (0.125; 0.25; 0.5 and 1 mL/L), with the positive control thiabendazole-based fungicide (Tecto®SC) in a concentration of 0.125 mL/L, and as negative control the fungus inoculated only in the culture medium (PDA). Every 24 hours, assessments of the fungal growth halo were made. To calculate the percentage of inhibition, the Edington formula was applied. Concentrations of 1 mL/L for the phytopathogens *C. musae* and *F. pallidoroseum* completely inhibited their mycelia in all replicates, whereas for the phytopathogen *L. caatinguensis*, full inhibition was observed in two of the replicates, but approximately 97% in the other repetition. Based on the chemical composition of lemongrass essential oil, the antifungal activity was associated with the citral, a monoterpene mixture consisting of two isomeric aldehydes, which present antifungal activity against several species of fungi. Furthermore, based on the literature, possible forms in which citral acts concerning its antifungal properties were discussed. It is worth noting that no study was found on the antifungal activity of this compound against *L. caatinguensis*.

Keywords: *Cymbopogon flexuosus*; essential oil; antifungal activity; *Lasiodiplodia caatinguensis*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Banana com sintomas de antracnose.....	19
Figura 2 - Banana com sintomas de podridão da coroa.....	20
Figura 3 - Banana com sintomas de antracnose.....	23
Figura 4 - Mamão com sinais de podridão do fruto.....	23
Figura 5 - Estrutura química do tiabendazol.....	28
Figura 6 - Capim-limão (<i>Cymbopogon flexuosus</i>).....	30
Figura 7 - Pesagem e cozimento das batatas.....	34
Figura 8 - Adição de agar e dextrose ao meio de cultura.....	35
Figura 9 - Autoclavagem e armazenamento do meio de cultura.	35
Figura 10 - Inserção do óleo essencial no meio de cultura.	36
Figura 11 - Inoculação dos fungos em meio BDA na presença do óleo essencial	37
Figura 12 - Índice de inibição micelial em função da concentração para o fungo <i>Colletotrichum musae</i>	40
Figura 13 - Evolução do crescimento do fungo <i>Colletotrichum musae</i>	40
Figura 14 - Índice de inibição micelial em função da concentração para o fungo <i>Fusarium pallidroseum</i>	43
Figura 15 - Evolução do crescimento do fungo <i>Fusarium pallidroseum</i>	44
Figura 16 - Índice de inibição micelial em função da concentração para o fungo <i>Fusarium pallidroseum</i>	46
Figura 17 - Evolução do crescimento do fungo <i>Lasiodiplodia caatinguensis</i>	47
Figura 18 - Ajuste linear do percentual inibitório em função das concentrações do óleo essencial.	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização química do óleo essencial de capim-limão com os respectivos parâmetros de identificação: estrutura química em SMILES (SMILES), Estrutura química e área relativa do pico (%).....	32
Tabela 2: Dosagem dos tratamentos e concentração final (mL/L).	36
Tabela 3 - Halo de crescimento para o fungo <i>Colletotrichum musae</i> em presença óleo essencial de capim-limão (<i>Cymbopogon flexuosus</i>) em diferentes concentrações.	38
Tabela 4 - Percentual de inibição do crescimento do fungo <i>Colletotrichum musae</i> em diferentes concentrações do óleo essencial de capim-limão (<i>Cymbopogon flexuosus</i>).	39
Tabela 5 - Halo de crescimento em milímetros do fungo <i>Fusarium pallidroseum</i> na presença óleo essencial de capim-limão (<i>Cymbopogon flexuosus</i>) em diferentes concentrações em mL/L.	41
Tabela 6 - Percentual de inibição do crescimento do fungo <i>Fusarium pallidroseum</i> em diferentes concentrações de óleo essencial de capim-limão (<i>Cymbopogon flexuosus</i>).	43
Tabela 7 - Halo de crescimento em milímetros para do fungo <i>Lasiodiplodia caatingensis</i> na presença óleo essencial de capim-limão (<i>Cymbopogon flexuosus</i>) em diferentes concentrações em mL/L.....	45
Tabela 8 - Percentual de inibição do crescimento para do fungo <i>Lasiodiplodia caatingensis</i> em diferentes concentrações de óleo essencial de capim-limão (<i>Cymbopogon flexuosus</i>).	46
Tabela 9 - Percentual de inibição do crescimento micelial dos fitopatógenos (%)	48
Tabela 10 - Equações da reta para cada ajuste linear em função e respectivos coeficientes de determinação.	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BDA - batata dextrose ágar

C1 - *Colletotrichum musae* no primeiro experimento

C2 - *Colletotrichum musae* no segundo experimento

C3 - *Colletotrichum musae* no terceiro experimento

EUA - Estados Unidos da América

EPA - Environmental Protection Agency (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos)

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura)

FDA - Food and Drug Administration (Administração de Alimentos e Medicamentos)

F1 - *Fusarium pallidoroseum* no primeiro experimento

F2 - *Fusarium pallidoroseum* no segundo experimento

F3 - *Fusarium pallidoroseum* no terceiro experimento

L1 - *Lasiodiplodia caatinguensis* no primeiro experimento

L2 - *Lasiodiplodia caatinguensis* no primeiro experimento

L3 - *Lasiodiplodia caatinguensis* no primeiro experimento

OMS - Organização Mundial de Saúde

R² - Coeficiente de determinação

SMILES - Simplified molecular-input line-entry system (Sistema simplificado de entrada de linha de entrada molecular)

LISTA DE SÍMBOLOS

®	Marca registrada
%	Porcentagem
CO ₂	Gás carbônico
±	Mais ou menos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivo Geral	16
2.2	Objetivos Específicos	16
3	REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1	Fungos	17
3.2	Fungos Fitopatogênicos	17
3.2.1	<i>Colletotrichum musae</i>	18
3.2.1.1	<i>Taxonomia</i>	18
3.2.1.2	<i>Doenças associadas</i>	18
3.2.1.3	<i>Ciclo de vida</i>	20
3.2.1.3.1	Necrotrófico	20
3.2.1.3.2	Hemibiotrófico	21
3.2.1.3.3	Latente ou quiescente.....	21
3.2.1.3.4	Endofítico.....	21
3.2.2.	<i>Fusarium pallidoroseum</i>	22
3.2.2.1	<i>Taxonomia</i>	22
3.2.2.2	<i>Doenças associadas</i>	23
3.2.2.3	<i>Ciclo de vida</i>	24
3.2.2.3.1	Dormente	24
3.2.2.3.2	Parasitário	25
3.2.2.3.3	Saprofítico.....	25
3.2.3	<i>Lasiodiplodia caatingensis</i>	25
3.2.3.1	<i>Taxonomia</i>	26
3.2.3.2.	<i>Doenças associadas</i>	26
3.2.3.3.	<i>Ciclo de vida</i>	26
3.3	Controle químico	27
3.3.1	<i>Tiabendazol</i>	27

3.4	Óleos essenciais.....LISTA DE SÍMBOLOS.....	29
3.4.1	Óleo essencial de capim-limão (<i>Cymbopogon flexuosus</i>)	30
3.4.1.1	Caracterização do óleo essencial	31
4	METODOLOGIA	34
4.1	Local dos experimentos e obtenção dos fungos.....	34
4.2	Preparação do meio de cultura batata dextrose ágar (BDA).....	34
4.3	Ensaio in vitro da inibição do crescimento fúngico	35
4.4	Análise de dados.....	37
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1	Ensaio de inibição do crescimento dos fitopatógenos com o óleo essencial de capim-limão (<i>Cymbopogon flexuosus</i>) no fungo <i>Colletotrichum musae</i>	38
5.2	Ensaio de inibição do crescimento dos fitopatógenos com o óleo essencial de capim-limão (<i>Cymbopogon flexuosus</i>) no fungo <i>Fusarium pallidroseum</i>	41
5.3	Ensaio de inibição do crescimento dos fitopatógenos com o óleo essencial de capim-limão (<i>Cymbopogon flexuosus</i>) no fungo <i>Lasiodiplodia caatingensis</i>	44
5.4	Análise dos dados coletados.....	47
5	CONCLUSÃO	51
	REFERÊNCIAS	52

1 INTRODUÇÃO

Os fungos constituem um reino diversificado de organismos e desempenham papéis essenciais em ecossistemas terrestres. Ao contrário das plantas, eles não realizam fotossíntese, obtendo nutrientes por meio da absorção de substâncias orgânicas. Os fungos desempenham um papel crucial na decomposição de matéria orgânica, reciclando nutrientes no ambiente. Além disso, muitos fungos formam associações simbióticas benéficas com plantas, como as micorrizas, auxiliando na absorção de nutrientes. Apesar desses benefícios, alguns fungos destacam-se como patógenos vegetais, sendo classificados como fitopatógenos (MADIGAN *et al* 2016 ; ALEXOPOULOS, 1952).

Nos últimos anos, o setor agrícola cresceu significativamente, impulsionado pela demanda global por alimentos, a expansão do mercado internacional e os avanços tecnológicos no campo. O Brasil é reconhecido internacionalmente como um dos principais produtores e exportadores de *commodities* agrícolas, como soja, dentre outros produtos (QUINTAN *et al*,2023). Entretanto, um dos desafios no setor agrícola, são as enfermidades associadas à agricultura, em especial as causadas por fungos. Cerca de 80% das patologias vegetais são atribuídas a esses organismos e, além disso, em escala mundial, são perdas aproximadamente 40% das culturas agrícolas (PRIYASHANTHA *et al*, 2023).

Devido a essas problemáticas, boa parte dos grandes produtores rurais investem no controle químico, por meio de agrotóxicos, tendo em vista sua fácil aplicação e resultados imediatos, sendo importante destacar que o Brasil é um dos maiores compradores desses produtos (FONSECA *et al*, 2015). Entretanto, é sabido que o uso inadequado de agrotóxicos pode levar a diversas complicações, seja ela para seres humanos ou para o meio ambiente (STADLER,2018).

No contexto dessa problemática, torna-se cada vez mais comum a busca por soluções fitossanitárias voltadas para a sustentabilidade, com isso, tem crescido as pesquisas avaliando o potencial de óleos essenciais frente à enfermidades causadas por fungos (FONSECA *et al*, 2015).

Os óleos essenciais são complexas misturas voláteis, compostas por diversos elementos como hidrocarbonetos, álcoois, cetonas e ésteres. Apresentam-se como líquidos aromáticos e voláteis, sendo sensíveis a fatores como luz, calor e ar. Podem ser obtidos através de técnicas como arraste por vapor d'água, hidrodestilação, prensagem do pericarpo ou extração por CO₂ supercrítico. Sua constituição química revela uma diversidade marcante

de componentes, como mono e sesquiterpenos, fenilpropanóides e ésteres, conferindo-lhes propriedades organolépticas e biológicas notáveis. Destacam-se por suas propriedades antibacterianas, antivirais, antifúngicas e inseticidas, tornando-os objetos de pesquisa na agricultura para o controle de patologias fúngicas em plantas. (DE MORAIS *et al*, 2009 ; IDRIS *et al*, 2015 ; CRAVEIRO, 1992 ; BIZZO, 2009).

Tendo em vista os malefícios causados por fungicidas sintéticos e a busca por alternativas sustentáveis para os problemas causados por fitopatógenos, esse trabalho busca investigar a atividade fungicida do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*) frente à diferentes fitopatógenos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Estudar a eficácia antifúngica do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*) frente a diferentes fungos fitopatógenos.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a atividade antifúngica do óleo essencial de capim-limão sobre os fungos *Colletotrichum musae*, *Fusarium pallidoroseum* e *Lasiodiplodia caatinguensis*;
- Determinar a concentração mais ativa para inibição do crescimento de cada um dos fungos;
- Correlacionar a relação estrutura/atividade com a eficácia fúngica do óleo essencial de capim-limão;
- Investigar os possíveis mecanismos de ação do citral (componente majoritário do óleo de capim-limão) frente aos fitopatógenos.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Fungos

O reino Fungi representa um grupo taxonômico extenso e altamente diversificado, englobando uma variedade de organismos, incluindo bolores, leveduras e cogumelos. A catalogação formal de espécies fúngicas atingiu um marco de cerca de 100.000 espécies descritas, no entanto, projeções científicas indicam a existência de até 1,5 milhão de espécies ainda não caracterizadas e classificadas (MADIGAN *et al* 2016).

Os fungos constituem uma fração significativa da rica diversidade biológica. Nesse contexto, apenas no Brasil, foram catalogadas e descritas mais de 8000 espécies de fungos, predominando aqueles classificados nos filos Ascomycota e Basidiomycota (FLORA DO BRASIL, 2023 ; MAIA *et al*, 2015).

A notável adaptabilidade dos fungos abrange um amplo espectro de interações com outros seres vivos e o ambiente. Alguns desses seres estabelecem relações simbióticas com raízes de plantas, como por exemplo as micorrizas, já outros atuam na indústria alimentícia, contribuindo para a fabricação de pães, vinhos e certos tipos de queijo. Mesmo apresentando características benéficas, alguns fungos se destacam como patógenos, capazes de causar doenças em plantas, animais e, inclusive, afetar a saúde humana (MADIGAN *et al* 2016 ; ALEXOPOULOS, 1952).

3.2 Fungos Fitopatogênicos

Conforme mencionado, certos fungos podem exibir comportamento patogênico em relação a determinadas plantas, sendo classificados como fitopatogênicos. Esses organismos constituem uma significativa ameaça para a segurança alimentar mundial, os serviços ecossistêmicos e os meios de subsistência humanos. As enfermidades vegetais acarretam uma série de repercussões econômicas mensuráveis e diretas para as culturas e a gestão florestal em diversos ambientes terrestres (LI *et al* 2023).

Estima-se que as doenças das plantas acarretem perdas anuais de aproximadamente 220 bilhões de dólares para a economia global, segundo dados da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO). Essas enfermidades resultam na redução de 10 a 42% das principais culturas em escala mundial . É

relevante ressaltar que, dentre essas doenças, 70 a 80% são atribuíveis a fungos patogênicos (PRIYASHANTHA *et al*, 2023).

LI *et al* (2023) relata alguns impactos na produtividade resultantes da presença de fungos em culturas alimentares importantes, como trigo e milho. As estimativas resultantes apontaram uma diminuição de 21,5% na colheita de trigo, um percentual associado a doenças como sarna e oídio, ambas provocadas por fungos, sendo os patógenos *Fusarium graminearum* e *Erysiphe graminis*, respectivamente. No que diz respeito ao milho, uma redução de 22,5% na produtividade foi registrada, sendo esse índice atribuído a doenças como fusariose e antracnose do caule, cujos fungos causadores são *Fusarium graminearum* e *Colletotrichum graminicola*, respectivamente.

Ao longo das últimas décadas, observou-se um aumento significativo nas doenças causadas em lavouras. Os patógenos causadores dessas enfermidades utilizam-se de uma variedade de estratégias para infectar as plantas, e exemplares notáveis incluem *Colletotrichum musae*, *Fusarium pallidoroseum* e *Lasiodiplodia caatingensis* (HOWLETT, 2001 ; SHARMA *et al*, 2023).

3.2.1 *Colletotrichum musae*

3.2.1.1 Taxonomia

Colletotrichum musae, [sinônimo: *Myxosporium musae* (Berk. & M. A. Curtis)], representa uma espécie de fungo, pertencente ao filo Ascomycota, classe Sordariomycetes, ordem Glomerellales e família Glomeraceae (SPECIES FUNGORUM, 2023; MYCOBANK, 2023). A origem desta espécie remonta à descoberta inicial no estado da Carolina do Norte (EUA), onde Berkeley, em 1874, formalizou sua designação como *Myxosporium musae* (SU *et al*, 2011). A transição taxonômica ocorreu em 1957, quando Von Arx integrou essa entidade biológica ao gênero *Colletotrichum*. Seu reconhecimento formal foi alcançado mais tarde no século XX, quando a espécie foi morfológicamente caracterizada, incluindo por processo de epitipificação (WEIR *et al*, 2012; SU *et al*, 2011).

3.2.1.2 Doenças associadas

Este fitopatógeno é frequentemente associado a enfermidades pós-colheita em bananas (*Musa spp.*), como a podridão da coroa e antracnose (DE COSTA, 2012 ; FINLAY,

1993). A antracnose (Figura 1) induz lesões de coloração escura e aspecto deprimido no fruto, sendo que, ao longo do tempo, essas lesões apresentam um aumento progressivo em tamanho, com a possibilidade de fusão entre elas. Os frutos contaminados por este patógeno exibem um processo de maturação acelerado, e, mesmo que a polpa não seja diretamente afetada, tornam-se inadequados para o consumo, comprometendo assim a qualidade do fruto e, por conseguinte, sua viabilidade comercial (OLIVEIRA *et al*, 2016).

Figura 1 - Banana com sintomas de antracnose.



Fonte: adaptado de Agrolink (2023).

Finlay *et al* (1993) atesta que *C.musae* corresponde a um dos principais fungos isolados em enfermidades de podridão da coroa (Figura 2) em bananas no arquipélago de Barlavento e além disso, testes de patogenicidade confirmam esse fungo como um patógeno primário dessa doença. Cordeiro *et al* (2015) aponta como sintomas principais o escurecimento da região da coroa, em que há a possibilidade de crescimento do micélio fúngico, o qual apresenta tonalidade branco-acinzentada.

Figura 2 - Banana com sintomas de podridão da coroa.



Fonte: adaptado de Cordeiro *et al* (2015).

A antracnose e a podridão da coroa surgem como desafios significativos para os produtores rurais, resultando em expressivas perdas econômicas. Estudos conduzidos por Pessoa (2005) e Aguiar (2019) corroboram essa preocupação, indicando que essas enfermidades têm o potencial de ocasionar prejuízos que alcançam até 40% na produção.

3.2.1.3 Ciclo de vida

Conforme De Silva (2007), fungos do gênero *Colletotrichum* exibem diferentes fases em seus ciclos de vida. Essas podem ser necrotrófico, hemibiotrófico, latente ou quiescente e endofítico. A fase que o fungo se encontra é dependente de fatores como a espécie, a planta hospedeira, a maturidade fisiológica do hospedeiro e as características ambientais.

3.2.1.3.1 Necrotrófico

O estágio de vida necrotrófico é característico de patógenos que invadem e colonizam células vegetais, induzindo a necrose celular. Esses organismos liberam enzimas líticas para degradar componentes vegetais, podendo também excretar toxinas, o que causa morte dos tecidos vegetais. Em seguida, o patógeno sobrevive nos restos deixados por células mortas ou debilitadas para completar seu ciclo de vida. É comum entre as espécies de *Colletotrichum* que haja uma fase necrotrófica em algum momento de seus ciclos de vida, exceto para as espécies que vivem estritamente como endófitos (DE SILVA, 2007).

3.2.1.3.2 Hemibiotrófico

O estágio hemibiotrófico consiste no fungo migrar de uma fase biotrófica, ou seja com o patógeno no interior do tecido vegetal, absorvendo ativamente metabólitos vegetais para se desenvolver, sem causar necrose celular, para uma fase necrotrófica (DE SILVA, 2007).

Nessa etapa, durante o início da enfermidade das células epidérmicas, são formadas vesículas de infecção primárias, não matando as células. Após isso, na fase necrotrófica, são formadas hifas de infecção secundárias, as quais invadem e matam células. O grau de hemibiotrofia depende da espécie fúngica e o momento da transição de biotrófica para necrotrófica é regularizado pelo estágio de desenvolvimento do hospedeiro e pelas condições ambientais (DE SILVA, 2007).

3.2.1.3.3 Latente ou quiescente

A quiescência, ou latência, não é uma etapa tão decisiva no ciclo de vida de um fungo, sendo mais considerada como uma fase de transição entre outras fases. Nesse período, durante um tempo prolongado, o organismo se mantém dormente dentro do hospedeiro, antes de ir para um estágio de vida mais ativo (DE SILVA, 2007).

Nesse tempo, o fungo se mantém inativo, com desenvolvimento micelial quase nulo. A etapa de latência é comum em fitopatógenos causadores de doenças pós-colheita em frutas e vegetais, principalmente em fungos pertencentes ao filo Ascomycota, como as espécies de *Colletotrichum* (DE SILVA, 2007).

Nestes casos, o fungo se mantém em estado de dormência dentro do tecido vegetal antes do desenvolvimento dos sintomas da doença, que ocorre após a colheita, armazenamento, transporte e venda dos produtos. As mudanças fisiológicas e bioquímicas durante o processo de amadurecimento do fruto podem ativar diferentes vias de sinalização de defesa, relacionadas às respostas do hospedeiro e do patógeno, desempenhando papel crucial na manutenção ou facilitação da transição do estilo de vida quiescente para o necrotrófico (DE SILVA, 2007).

3.2.1.3.4 Endofítico

O estágio de vida endofítico ocorre quando fungos ocupam o interior das células dos vegetais hospedeiros, sem ocasionar patologias visíveis, em uma relação simbiótica. Os organismos que apresentam esse ciclo, geralmente instaura uma relação mutualística com seus hospedeiros, na qual o fungo obtém vantagens como proteção contra o dessecamento, além do acesso a nutrientes e compostos gerados pela fotossíntese. Já o hospedeiro pode ter uma melhora no seu desenvolvimento, além de aumento na resistência contra herbívoros e patógenos (DE SILVA, 2007).

De acordo com a fisiologia e genótipo do vegetal, aliados às condições ambientais, essa relação mutualística entre a planta e o fungo pode se converter em uma relação de antagonistas ou patogênicas (DE SILVA, 2007). Delaye *et al* (2013), em uma pesquisa sobre a evolução das interações fúngicas, atesta que a maior parte das espécies endofíticas avaliadas relacionava-se filogeneticamente com espécies com um ciclo de vida necrotrófico, e que esses ciclos alternavam-se várias vezes durante o desenvolvimento do fungo.

Várias espécies do gênero *Colletotrichum* foram identificadas como endofíticas, sendo os complexos de espécies *gloeosporioides*, *graminicola* e *boninense*, em sua maioria, que abrigam a maior parte dos isolados de fungos endofíticos (DE SILVA, 2007).

Observando os sintomas manifestados pela antracnose e pela podridão da coroa, é possível relacionar *C. musae* a um fungo com ciclo de vida necrotrófico, pois ambas doenças são caracterizadas pela necrose dos tecidos epidérmicos.

3.2.2 *Fusarium pallidorozeum*

3.2.2.1 Taxonomia

Fusarium pallidorozeum [sinônimos: *Fusarium semitectum* (Berk & Ravenel) e *Fusarium incarnatum* (Roberge)] é uma espécie de fungo pertencente ao filo Ascomycota, classe Sordariomycetes, ordem Hypocreales e família Nectriaceae (SPECIES FUNGORUM, 2023; MYCOBANK, 2023), tendo sua primeira descrição em 1875 (LESLIE *et al* 2006).

Diversos cientistas reconheceram essa espécie e descreveram três variedades: *F. semitectum* var. *semitectum* (1875), *F. semitectum* var. *majus* (1930) e *F. semitectum* var. *violaceum* (1969). Apesar das divergências quanto à nomenclatura a comunidade científica opta por utilizar a designação *F. semitectum* até que novas pesquisas sejam conduzidas a fim

de elucidar se realmente trata-se de um complexo de espécies (MYCOBANK,2023; LESLIE *et al* 2006).

3.2.2.2 Doenças associadas

Esse fitopatógeno encontra-se associado a várias enfermidades em diferentes frutos. Na banana (*Musa spp.*), esse fungo pode ocasionar a podridão dos frutos, a qual é caracterizada por marcas de cor marrom escura ou pretas sobre a superfície do fruto (ZAKARIA , 2023).

Ainda na banana, esse fungo pode causar a podridão da coroa (Figura 3), enfermidade caracterizada pelo escurecimento e mudança de textura na região da coroa, além do avanço da contaminação para a polpa do fruto (ZAKARIA, 2023; FINLAY,1993; ZAKARIA *et al* 2012).

Figura 3 - Banana com sintomas de antracnose



Fonte: adaptado de Patil (2021).

No mamão (*Carica papaya L.*), este fungo induz a podridão dos frutos (Figura 4), manifestando-se inicialmente por lesões hidratadas, levemente deprimidas, acompanhadas de crescimento micelial de coloração esbranquiçada a rosada na epiderme. Essas áreas circulares e sensíveis evoluem progressivamente para pequenas depressões. Com o decorrer do tempo, o micélio do fungo se desenvolve nessas regiões, culminando na podridão do fruto (ZAKARIA *et al* 2023; CHAUDHARY *et al* 2020; ZAKARIA *et al* 2012).

Figura 4 - Mamão com sinais de podridão do fruto



Fonte: Adaptado de Patil (2021).

Na manga (*Mangifera indica L.*), esse fungo acarreta manchas foliares, as quais são caracterizadas por pontos formados devido à necrose dos tecidos. Essas manchas interferem na fotossíntese, uma vez que limitam as áreas propensas a esse processo, prejudicando a obtenção de nutrientes da planta (OMAR *et al* 2018 ; ZAKARIA *et al* 2023).

No abacaxi (*Ananas comosus*), esse fitopatógeno está associado à fusariose, a qual ocasiona descoloração nas áreas afetadas, proporcionando frutos de coloração castanha. Com o passar do tempo, as regiões afetadas apresentam depressões, além do micélio fúngico se tornar visível. Por último, plantas infectadas podem apresentar outros problemas como nanismo, clorose e malformações no caule. Ainda no abacaxi, esse fungo pode provocar a podridão dos frutos, na qual há o surgimento de lesões de cor marrom, além de ocasionalmente aparecimento do micélio fúngico nessas regiões (ZAKARIA *et al* 2023).

3.2.2.3 Ciclo de vida

Conforme Okungbowa *et al* (2012) espécies do gênero *Fusarium* são patógenos que se encontram presentes no solo e agem atacando os vasos condutores de água das plantas hospedeiras. No ciclo de vida de espécies deste gênero, existem três estágios: dormente, parasitário e saprofítico.

3.2.2.3.1 Dormente

Nesse estágio, há a inibição do crescimento das principais estruturas somáticas do fungo devido à micostase ou microbiostase. Para que um organismo nesse estágio transite para uma fase parasitária, é necessário que estruturas como os propágulos ou o tubo germinativo do esporo adentre no hospedeiro por rachaduras, as quais são causadas por raízes laterais emergentes, feridas ou na extremidade da raiz, pelos pêlos radiculares ou raízes laterais. Fungos desse gênero também são capazes de secretar enzimas hidrolíticas, capazes de otimizar esse processo (OKUNGBOWA *et al*,2012).

3.2.2.3.2 Parasitário

Nesse estágio, inicialmente há a penetração do micélio fúngico do córtex e endoderma da raiz, hifas são desenvolvidas e invadem os vasos do xilema do hospedeiro.

Nesse processo, os micélios permanecem nos vasos, contaminando a planta em sentido ascendente, indo em direção ao caule e a coroa da planta.

No interior dos vasos lenhosos, os micélios produzem microconídios, os quais transitam no fluxo transpiratório da planta, até que ficam retidos nas extremidades dos vasos. Esses esporos dão origem à novas hifas, invadindo as regiões adjacentes, continuando a invasão e aumentando a infecção.

Nessa etapa, as hifas se dispersam no apoplasto celular, causando alterações citológicas significativas, o que resulta na expressão de sintomas. Após isso, ocorre a obstrução dos vasos por micélios e esporos, além do esmagamento causado por células parenquimatosas, as quais se proliferam como mecanismo de defesa. Esses acontecimentos culminam no murchamento de ramos inferiores e posteriormente da planta inteira, com sua consequente morte (OKUNGBOWA *et al*,2012).

3.2.2.3.3 Saprofítico

Após a morte do hospedeiro, os clamidósporos voltam para o solo após a decomposição do organismo parasitado. Essas estruturas podem permanecer ativas ou entrarem em estado de dormência por um longo período, fazendo com que algumas espécies possam ser portadoras assintomáticas de *Fusarium*, com algumas ervas daninhas. O desenvolvimento dos clamidósporos pode ocorrer por meio de uma colonização parasitária ou saprofítica, quando encontram um novo hospedeiro (OKUNGBOWA *et al*,2012).

Por meio dos principais sintomas associados às fitopatologias mencionadas, é possível associar o *Fusarium pallidorozeum* a um ciclo de vida parasitário, tendo em vista suas consequências frente à contaminação das frutas apresentadas.

3.2.3 *Lasiodiplodia caatingensis*

3.2.3.1 Taxonomia

Lasiodiplodia caatingensis é uma espécie pertencente ao reino Fungi, ao filo Ascomycota, classe Dothideomycetes, ordem Botryosphaerales e família Botryosphaeriaceae. A etimologia associada a seu nome refere-se à prevalência de sua identificação no domínio fitogeográfico da caatinga. O registro inicial dessa espécie foi

oficializado em 2016 por Coutinho *et al.* (MYCOBANK,2023; SPECIES FUNGORUM,2023; COUTINHO *et al.*,2016).

3.2.3.2 Doenças associadas

O estudo conduzido por Coutinho *et al.* (2016) sobre a patogenicidade de distintas espécies pertencentes ao gênero *Lasiodiplodia* em mangas evidenciou que essa categoria de patógenos é capaz de ocasionar lesões necróticas de formato circular na epiderme das mangas. Essa condição patológica, por sua vez, desenvolve-se para uma etapa de podridão mole ao completar 7 dias de incubação. *L. caatinguensis* se revelou como uma espécie impactante, ocasionando lesões nos frutos com valores superiores a 25 mm.

Nas plântulas de caju, *L. caatinguensis* destacou-se como agente patogênico ao induzir necroses, cancos e exsudações gomosas, tornando-se evidente 15 dias após a inoculação. O desenvolvimento de lesões necróticas significativas foi notório, com dimensões de 46 mm, posicionando-se como uma das principais espécies causadoras de danos nas plântulas. Observou-se que, durante esse intervalo, isolados de *L. caatinguensis* apresentaram uma taxa de exsudação de goma em 80% das plantas inoculadas, indicando uma resposta patogênica pronunciada.

Em relação às mudas de graviola, *L. caatinguensis* se diferenciou ao provocar lesões de menor extensão, com um diâmetro médio de 36,8 mm, em comparação com outras espécies do gênero. No estudo, *Lasiodiplodia caatinguensis*, em conjunto com *L. brasiliensis*, *L. euphorbicola* e *L. pontae*, destacou-se por sua capacidade de causar lesões de maiores dimensões, embora as diferenças entre elas não tenham alcançado significância estatística.

3.2.3.3 Ciclo de vida

Diferentemente dos outros fitopatógenos, na literatura ainda não foi documentado um ciclo de vida geral para as espécies desse gênero. Entretanto, Cipriano *et al* (2015) atesta que o fitopatógeno do mesmo gênero da espécie *Theobromae* é considerado necrotrófico.

Já Salvatore *et al* (2020) aponta que há existência de características bioquímicas indicativas de adaptação ao ciclo de vida endofítico. Entre essas características se encontram a capacidade de sintetizar produtos bioativos, que podem contribuir para a proteção da planta contra adversidades biológicas e melhorar sua saúde.

Com base nos sintomas apresentados por frutas contaminadas pelo *Lasiodiplodia caatinguensis*, a capacidade de induzir necroses na epiderme de frutas pode indicar a característica de um fungo com ciclo de vida necrotrófico.

3.3 Controle químico

A aplicação de agentes fungicidas se destaca como um dos principais meios de manejo das doenças em plantas. A praticidade na implementação aliada aos resultados imediatos alcançados têm contribuído para sua extensa utilização em diversas culturas (GHINI, 2002).

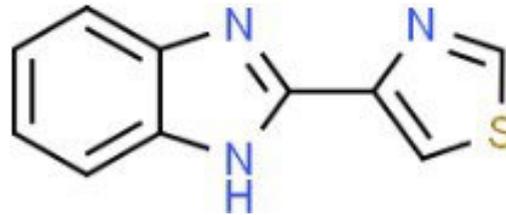
O Brasil está entre os principais consumidores globais de agentes defensivos agrícolas, com investimentos anuais em torno de 2,5 bilhões de dólares para a aquisição desses produtos. O país é responsável por quase metade do volume total de defensivos empregados na América Latina (FONSECA *et al*, 2015).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) destaca que todos os agrotóxicos, se não utilizados de maneira adequada, podem ocasionar danos à saúde humana. Exposições prolongadas, mesmo a doses relativamente pequenas, bem como a exposição crônica de trabalhadores ou a ingestão de alimentos contaminados, têm sido associadas a uma gama de problemas de saúde, incluindo anomalias na gravidez, malformações fetais, distúrbios hormonais, infertilidade e o desenvolvimento de cânceres (STADLER, 2018).

3.3.1 Tiabendazol

O Tiabendazol (Figura 5) é um composto químico que pertence ao grupo químico dos benzimidazóis, além de ser um aditivo alimentar pertencente à classe de conservantes. Aprovado pela FDA dos EUA, ele atua como antifúngico e anti-helmíntico, sendo aplicado na pré e pós-colheita de frutas e vegetais para redução de mofo, pragas, apodrecimento e deterioração durante armazenamento e transporte (BUDETIC, 2023).

Figura 5 - Estrutura química do tiabendazol



Fonte: Adaptado de ChemSpider (2023)

Esse composto é incolor, inodoro e possui rápida absorção pelas raízes das plantas nas quais é utilizado, sendo difundido por toda a planta. Outro ponto a se destacar é que esse fungicida não é efetivamente removido por lavagem e permanece estável em procedimentos de processamento de alimentos (STADLER, 2018 ; BUDETIĆ, 2023).

As concentrações permitidas variam por alimento, com resíduos detectados em produtos de origem animal. Valores de ingestão diária permitida diferem entre EPA (0,1 mg/kg) e OMS (0,3 mg/kg). Este composto destaca-se pela necessidade de monitoramento de resíduos devido a sua presença em alimentos e atividades biológicas diversas (STADLER, 2018).

Apesar de baixa toxicidade (categoria 4), a EPA classificou-o como potencialmente carcinogênico em doses causadoras de desequilíbrio hormonal da tireóide (BUDETIĆ, 2023). O estudo de Séide *et al.* (2015) aponta que concentrações micromolares de tiabendazol desencadeiam apoptose em hepatócitos de roedores. Essa propriedade pode ser prejudicial ao tecido hepático normal, ocasionando a remoção de células funcionais. Sendo assim, o uso inadequado desse fungicida gera acúmulo no meio ambiente, podendo representar um risco para seres humanos e outras espécies.

Diante de problemas relacionados ao desequilíbrio ambiental, torna-se necessário implementar estratégias que visem práticas de gestão sustentável, substituindo os fungicidas sintéticos e utilizando produtos que beneficiem o meio ambiente, como por exemplo os óleos essenciais (FONSECA *et al.*, 2015).

3.4 Óleos essenciais

Os óleos essenciais podem ser conceituados como complexas misturas de componentes voláteis (hidrocarbonetos, álcoois, cetonas, aldeídos, ésteres, etc), lipofílicos e de baixo peso molecular. Em geral, são misturas aromáticas e líquidas, apresentam alta volatilidade mesmo a temperatura ambiente, além de exibirem sensibilidade quanto à fatores como luz, calor e ar (DE MORAIS *et al*, 2009).

Esses compostos podem ser obtidos por meio de técnicas como arraste por vapor d'água, hidrodestilação ou prensagem do pericarpo, em se tratando de frutos cítricos. Além disso, é possível obtê-los por meio de extração por CO₂ supercrítico ou por extração por solventes orgânicos apolares. O primeiro método extrativo é comumente utilizado no âmbito industrial, já por meio do segundo método obtém-se óleos essenciais e de pouco valor comercial, dado às pequenas quantidades e ao longo processo de extração (DE MORAIS *et al*, 2009).

A sua constituição química revela uma marcante presença variada de componentes, tais como mono e sesquiterpenos, fenilpropanóides, ésteres, e outras substâncias de baixo peso molecular. Devido às várias funções e a extraordinária forma de combinação (isomeria), tem-se uma grande diversidade química e variabilidade estrutural, conferindo aos óleos essenciais propriedades organolépticas e biológicas, constituindo-os como matérias primas de importantes e de interesse industrial (CRAVEIRO, 1992 ; BIZZO, 2009).

Os óleos essenciais manifestam propriedades notáveis de ação antibacteriana, antiviral, antifúngica e inseticida. Em virtude dessas características, esses compostos emergem como objetos de investigação no contexto agrícola, sendo avaliados quanto à sua eficácia no controle de patologias fúngicas em plantas (IDRIS *et al*, 2015).

Diversas pesquisas têm corroborado a notável eficácia antifúngica dos óleos essenciais em relação a distintos fitopatógenos. O estudo conduzido por Pereira *et al*. (2006) constatou que o óleo essencial derivado do *Origanum vulgare L.* (orégano) exibiu a capacidade de inibir o desenvolvimento de *Fusarium sp.*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger*. Além disso, Borges *et al*. (2005) afirmou que os óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* (capim-limão), *Caryophyllus aromaticus* (cravo-da-índia) e *Rosmarinus officinalis* (alecrim) manifestaram resultados positivos ao reprimir o crescimento do fungo *Phakopsora pachyrhizi*. Outro estudo, conduzido por Pereira *et al*. (2018), verificou que os óleos essenciais de hortelã-pimenta, capim-limão e manjeriço demonstraram eficácia equivalente ao fungicida utilizado, oferecendo uma alternativa viável para o controle da podridão abacaxi na cana de açúcar causada pelo fitopatógeno *Thielaviopsis paradoxa*. Essas

conclusões consolidam a promissora perspectiva dos óleos essenciais como agentes fitossanitários eficazes e ecologicamente sustentáveis.

A preferência pela utilização de óleos essenciais em detrimento de agrotóxicos encontra justificativa na busca por métodos mais sustentáveis e na redução do uso indiscriminado de defensivos. A exploração da atividade biológica presente nos metabólitos secundários dos extratos brutos e, especialmente, nos óleos essenciais de plantas, tem emergido como uma promissora abordagem para o controle alternativo de doenças em plantas cultivadas, conforme expresso com os estudos mencionados (JUNIOR *et al*, 2009).

3.4.1 Óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon flexuosus*)

Cymbopogon flexuosus (Figura 6), popularmente conhecida por capim-limão, é uma espécie nativa da Índia. É caracterizada por ser uma grama com vários tufos, além de apresentar muitos caules rígidos, os quais surgem de uma haste curta. Suas folhas têm aspecto linear e podem atingir até 50 cm de altura por 1,5 cm de largura. Essa planta é capaz de se adaptar a diversas condições de solo e clima, porém o seu crescimento vigoroso é observado em solos arenosos e bem drenados (GANJEWALA *et al*, 2013).

Figura 6 - Capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*)



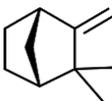
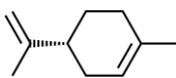
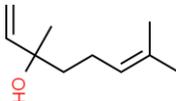
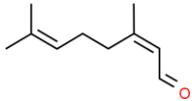
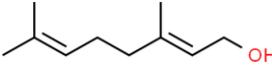
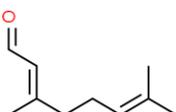
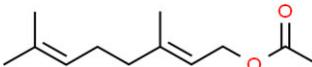
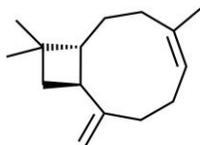
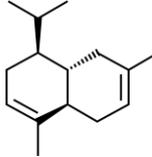
Fonte: adaptado de Ganjewala (2013)

O óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*), cujo aroma é uma importante característica, é muito utilizado na indústria de cosméticos e de medicamentos. Exibe propriedades anticâncer, antibacteriana e antifúngica. No Brasil, sua produção se concentra na região Nordeste do país (CRAVEIRO,1992 ; AZEVEDO,2016).

3.4.2 Caracterização do óleo essencial

Por meio da técnica de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, Silva (2022) determinou a composição química do óleo essencial de capim-limão utilizado neste estudo. Os percentuais de cada composto presente no óleo foram detalhados na Tabela 1.

Tabela 1 - Caracterização química do óleo essencial de capim-limão com os respectivos parâmetros de identificação: estrutura química em SMILES (SMILES), Estrutura química e área relativa do pico (%)

Capim-limão (<i>Cymbopogon flexuosus</i>)			
Composto	SMILES	Estrutura química	Área relativa do pico (%)
Canfeno	<chem>CC1(C2CCC(C2)C1=C)C</chem>		0,68
D-Limoneno	<chem>CC1=CCC(CC1)C(=C)C</chem>		2,85
Linalol	<chem>CC(=CCCC(C)(C=C)O)C</chem>		0,55
Neral	<chem>CC(=CCCC(=CCO)C)C</chem>		38,2
Geraniol	<chem>CC(=CCCC(=CCO)C)C</chem>		4,84
Geranial	<chem>CC(=CCCC(=CC=O)C)C</chem>		45,08
Acetato de geranila	<chem>CC(=CCCC(=CCOC(=O)C)C)C</chem>		3,08
<i>E</i> -Cariofileno	<chem>CC1=CCCC(=C)C2CC(C2CC1)(C)C</chem>		3,18
γ -Cadineno	<chem>CC1=CC2C(CCC(=C2CC1)C)C(C)C</chem>		1,08

Fontes: SMILES: PubChem (2023); Estruturas químicas: ChemSpider (2023); Composto e área relativa do pico (%): Silva (2022);

Para o óleo essencial de capim-limão utilizado neste estudo, foram observados dois componentes majoritários, o neral (β -citral ou cis-citral) e o geranial (α -citral ou trans-citral), o primeiro correspondendo à 38,2% da composição do óleo e o segundo 45,08%, essa mistura origina o citral. Este composto é relatado na literatura como componente majoritário do óleo essencial de capim-limão, além da sua presença ser associada à atividade antimicrobiana desse óleo (SILVA,2022 ; KAKARLA *et al* 2009 ; ADUKWU *et al*, 2016).

Esses percentuais observados são semelhantes aos descritos pela literatura. Adukwu *et al* (2016) observou que, na composição do óleo de capim-limão usado em seus estudos, o percentual de neral era de 38,491% e o de Geranial era de 50,509%. Já Chowdhury *et al* (2003), determinou o percentual de 33,1% de geranial e 30,0% de neral no óleo essencial de capim-limão utilizado em sua pesquisa. Silva (2022) atesta que diferentes condições edafoclimáticas durante o plantio são capazes de provocar variações na composição química dos óleos essenciais.

4 METODOLOGIA

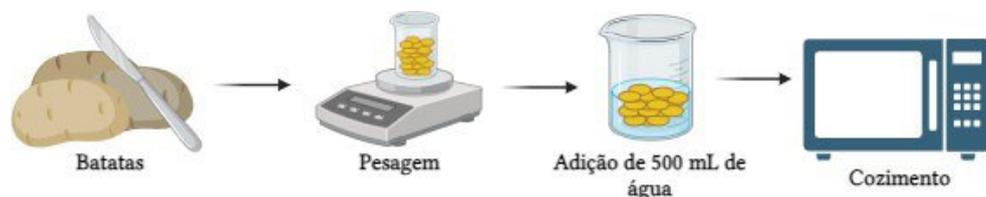
4.1 Local dos experimentos e obtenção dos fungos

O experimento *in vitro* foi conduzido nas dependências da Embrapa Agroindústria Tropical, no laboratório de Fitopatologia, localizado no município de Fortaleza-CE. Os fungos utilizados na pesquisa fazem parte do acervo da micoteca do laboratório. Foram usados três tipos de fungos, a saber: *Colletotrichum musae*, patógeno de pós-colheita da banana; *Fusarium pallidoroseum*, fungo causador de doença de pós-colheita no melão e o *Lasiodiplodia caatingensis*, causador da podridão preta da haste em cajueiros.

4.2 Preparação do meio de cultura batata dextrose ágar (BDA)

O meio de cultura usado para a realização do experimento foi a base de batata dextrose agar (BDA), utilizando a metodologia proposta por Riker & Riker (1936). O preparo consistiu na utilização de 200 g de batatas inglesas, descascadas e cortadas em círculos de pequena espessura, as quais foram pesadas em balança de precisão (Marte BL320H). Em seguida, foram adicionadas a um béquer de 2 L, contendo 500 ml de água destilada, e cozidas em forno micro-ondas durante 30 minutos, conforme ilustrado na Figura 7.

Figura 7 - Pesagem e cozimento das batatas.

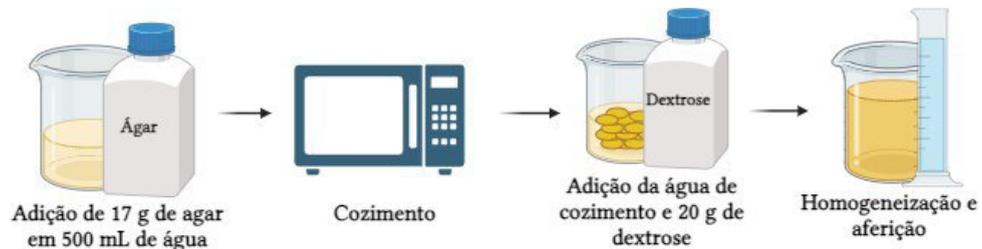


Fonte: Autora (2023).

Conforme a Figura 8, em outro béquer, contendo 500 mL de água destilada, foi adicionado 17 g de ágar da marca INLAB, homogeneizado e levado para cozimento por cerca de 2 minutos. O caldo da batata foi adicionado ao béquer com ágar depois do seu cozimento,

além de 20 g de dextrose (VETEC). O conteúdo foi aferido em proveta para o volume de 1000 mL.

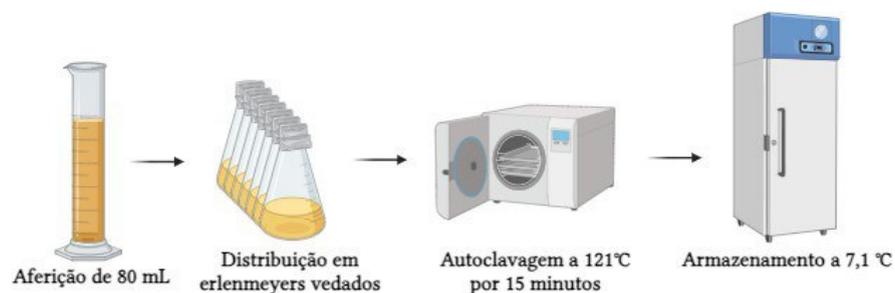
Figura 8 - Adição de agar e dextrose ao meio de cultura.



Fonte: Autora (2023).

Após a aferição, de acordo com a Figura 9, o meio de cultura foi distribuído em erlenmeyers com 80 mL da solução, os quais foram vedados com tufos de pano e papel alumínio. Em seguida, foram levados para esterilização, em um aparelho de autoclave vertical (Phoenix AV-75), sob pressão de 1 kgf/cm^2 (1 atm), mantendo-se uma temperatura de 121°C por 15 minutos. Após esse intervalo de tempo, os erlenmeyers foram retirados do equipamento e, quando em temperatura ambiente, armazenados em geladeira sob temperatura de $7,1^\circ\text{C}$.

Figura 9 - Autoclavagem e armazenamento do meio de cultura.



Fonte: Autora (2023).

4.3 Ensaio *in vitro* da inibição do crescimento fúngico

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 4 tratamentos de dosagem do óleo essencial (BioEssência) de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*), e 3 repetições, sendo cada repetição composta por 4 placas. Assim, procedeu-se à adição de quantidades distintas de óleo em erlenmeyers com meio de cultura (BDA) em uma capela de fluxo laminar. Foram adicionadas alíquotas de 10 μL , 20 μL , 40 μL e 80 μL , as quais foram introduzidas em erlenmeyers contendo 80 mL de meio (BDA), previamente autoclavados e aquecidos em forno micro-ondas, conforme se observa na Figura 10.

Figura 10 - Inserção do óleo essencial no meio de cultura.



Fonte: Autora (2023).

Na Tabela 2, abaixo, é apresentado o esquema de dosagem do experimento. Além disso, foram feitos dois tipos de controles, um controle positivo, que consistia de 10 μL de fungicida Tecto® (Syngenta), e outro controle negativo, o qual continha apenas o meio de cultura (BDA), conforme mostrado na Figura 10.

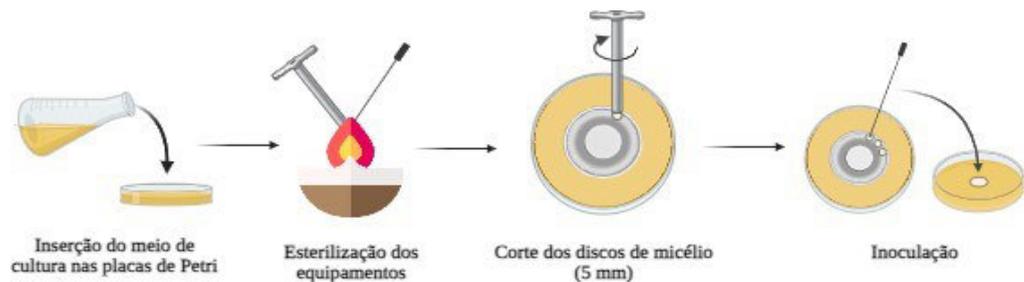
Tabela 2: Dosagem dos tratamentos e concentração final (mL/L).

Amostra	Quantidade de óleo (μL)	Concentração final (mL/L)
T6 (Controle negativo)	-	-
T5 (Controle positivo)	10	0,125
T4	10	0,125
T3	20	0,25
T2	40	0,5
T1	80	1

Fonte: Autora (2023).

Após a adição das alíquotas de óleo, os erlenmeyer foram vertidos em placas de Petri com diâmetro de 90 mm. Posteriormente à solidificação, foram inseridos discos de 5 mm do micélio dos fungos fitopatogênicos, bem como as placas foram vedadas com plástico filme e postas em sala de incubação, cuja temperatura foi mantida a 25 ± 2 °C. Na Figura 4, abaixo, está representado o esquema de realização do experimento.

Figura 11 - Inoculação dos fungos em meio BDA na presença do óleo essencial



Fonte: Autora (2023).

Para avaliação do crescimento micelial dos fungos foi utilizado um paquímetro digital (Digimess) para medir o halo vertical e o horizontal do fungo a cada 24 horas. Para calcular a porcentagem de inibição, foi aplicada a fórmula de Edington, a qual se encontra abaixo:

$$I = \frac{(CFC - CFT)}{CFC} \times 100 \quad (1)$$

Nessa equação, a porcentagem de inibição é representada por I, CFC corresponde ao crescimento do fungo no controle e CFT se refere ao crescimento do fungo no tratamento.

O término do experimento se deu a partir do crescimento do diâmetro total da placa do fungo, no controle negativo. Para o *Colletotrichum musae*, alcançou-se o tempo total de 96 horas, enquanto o *Fusarium pallidoroseum*, 192 horas e, por último, o *Lasiodiplodia caatingensis*, atingiu o tempo total de 48 horas.

4.4 Análise de dados

Para efetuar a análise dos dados de média, variância e desvio-padrão, foi usado o *Microsoft Excel* (2023). Além dos gráficos de porcentagem de inibição e ajuste linear das curvas, bem como do cálculo do coeficiente de determinação, R^2 .

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Ensaio de inibição do crescimento dos fitopatógenos com o óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*) no fungo *Colletotrichum musae*

A partir das medidas efetuadas a cada 24 horas, montou-se uma tabela (Tabela 3) a qual exibe a progressão do crescimento do halo fúngico no intervalo de tempo medido. Calculou-se a média aritmética entre os quatro tratamentos de cada concentração, em seguida novamente obteve-se a média aritmética desses resultados para cada repetição do experimento, a qual foi inserida na Tabela 3.

Tabela 3 - Halo de crescimento para o fungo *Colletotrichum musae* em presença óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*) em diferentes concentrações.

Concentração (mL/L)	Halo de crescimento (mm)			
	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
Controle negativo (C-)	17,25 ± 1,04	40,86 ± 4,82	66,59 ± 7,15	90,00 ± 0,00
0,125	2,79 ± 2,42	19,15 ± 4,82	37,14 ± 5,52	56,09 ± 5,65
0,25	0,00 ± 0,00	7,06 ± 6,13	16,86 ± 8,97	35,59 ± 4,52
0,5	0,00 ± 0,00	2,78 ± 3,33	8,47 ± 13,15	19,14 ± 15,48
1	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Controle positivo (C+)	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00

Fonte: Autora (2023).

Conforme demonstrado pela Tabela 3, nos testes de inibição do crescimento para o fitopatógeno em questão, notou-se que todos os tratamentos apresentaram eficácia na

restrição do desenvolvimento fúngico. No entanto, os resultados relacionados à concentração de 1 mL/L destacam-se apresentando a máxima inibição, além de exibir um desvio padrão nulo, indicando uniformidade entre os valores. Outro resultado a se destacar é o controle positivo, o qual apresenta eficácia máxima quanto à inibição do crescimento do fitopatógeno, além disso, apresenta um desvio padrão nulo, indicando que não houve variações nos resultados obtidos para essa concentração.

A partir das medidas obtidas para o período de 96 horas, na Tabela 4 é mostrado o percentual de inibição para cada tratamento, exibindo-o para cada repetição do experimento, indicadas por C1, C2 e C3. Por fim calculou-se a média aritmética desses valores para cada réplica.

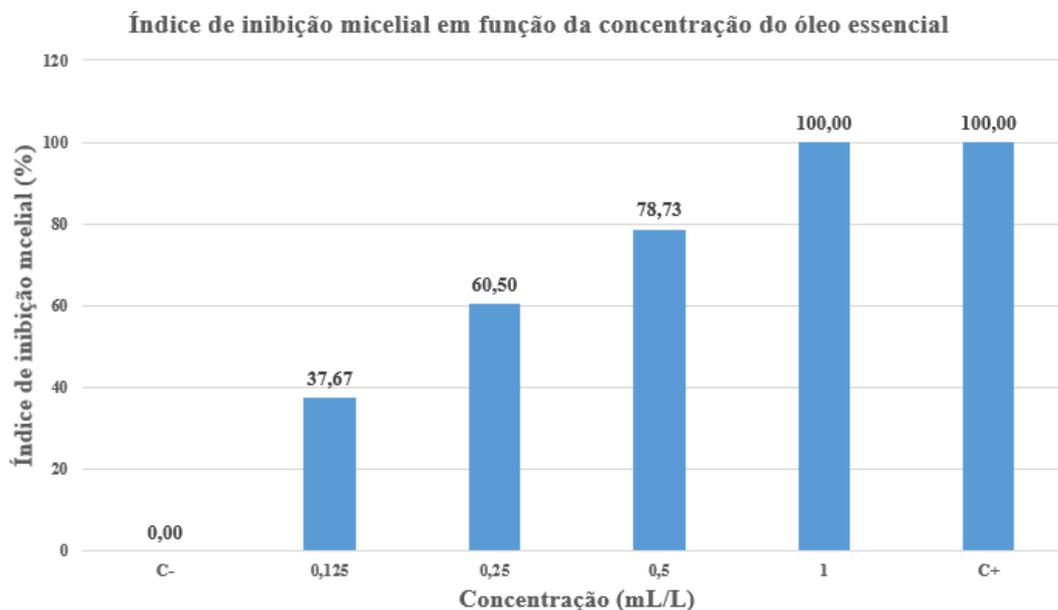
Tabela 4 - Percentual de inibição do crescimento do fungo *Colletotrichum musae* em diferentes concentrações do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*).

Concentração (mL/L)	Percentual de inibição (%)			
	C1	C2	C3	Média entre os valores
Controle negativo (C-)	0	0	0	0
0,125	32,92	44,79	35,31	37,67
0,25	61,09	65,21	55,20	60,50
0,5	88,64	88,69	58,87	78,73
1,0	100	100	100	100
Controle positivo (C+)	100	100	100	100

Fonte: Autora (2023).

Com base nos resultados obtidos, procedeu-se à elaboração de um gráfico (Figura 7), evidenciando os valores médios do percentual inibitório associados a cada concentração. No gráfico, C- representa o controle negativo contendo somente meio de cultura e C+ o controle positivo, o qual apresenta o fungicida a base de tiabendazol na concentração de 0,125 mL/L.

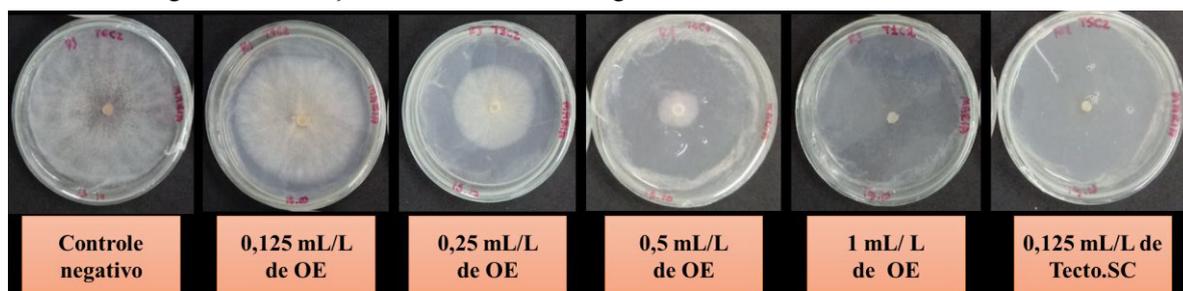
Figura 12 - Índice de inibição micelial em função da concentração para o fungo *Colletotrichum musae*.



Fonte: Autora (2023).

Na Figura 13 é demonstrado o crescimento do fungo para cada meio de cultura com sua respectiva dosagem de óleo essencial ao final do experimento. Como condizente com o gráfico, é possível observar que o aumento da concentração do óleo essencial promove uma diminuição no crescimento micelial, ao ser comparado com o controle negativo, no qual há somente o meio de cultura.

Figura 13 - Evolução do crescimento do fungo *Colletotrichum musae*.



Fonte: Autora (2023).

Os resultados obtidos nas investigações estão em consonância com a literatura especializada. O óleo essencial empregado na pesquisa demonstra como principais constituintes o neral e o geranial, dois aldeídos isômeros geométricos cuja combinação configura o citral (Kakarla *et al* , 2009).

O citral é um composto químico dotado de marcante atividade fungicida e exerce efeitos notáveis na presença do fitopatógeno *Colletotrichum musae*, resultando na inibição

completa do crescimento de conídios e apressórios, conforme indicado por Herath *et al.* (2008).

Com uma abordagem metodológica semelhante à utilizada neste estudo, Garcia *et al.* (2008) corroboram a eficácia do citral, observando a inibição integral do crescimento do micélio fúngico de *C. musae* na presença deste composto. Além disso, em ensaios *in vivo* com bananas inoculadas com o referido patógeno, constatou-se uma diminuição de 60% nas lesões quando submetidas ao tratamento com citral a uma concentração de 1%.

Quanto ao mecanismo de ação do citral para com esse fitopatógeno, não foi encontrado na literatura um estudo que avaliasse o mecanismo do citral especificamente contra *C. musae*. Entretanto, Scariot *et al.* (2020) investigou o modo de ação do citral e outros monoterpênicos frente a uma espécie do mesmo gênero, *C. acutatum*. A pesquisa revelou que a inibição da germinação está associada à perda de integridade da membrana celular e o acúmulo de espécies reativas de oxigênio, fatos que podem desencadear morte celular por apoptose.

5.2 Ensaio de inibição do crescimento dos fitopatógenos com o óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*) no fungo *Fusarium pallidoroseum*

Com base nas mensurações realizadas a cada intervalo de 24 horas, na Tabela 5, é demonstrada a evolução temporal do desenvolvimento do halo fúngico. Procedeu-se ao cálculo da média aritmética para os quatro tratamentos de cada concentração, seguido pela obtenção da média aritmética desses resultados para cada replicação do experimento.

Tabela 5 - Halo de crescimento em milímetros do fungo *Fusarium pallidoroseum* na presença óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*) em diferentes concentrações em mL/L.

Concentração (mL/L)	Halo de crescimento (mm)							
	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas	120 horas	144 horas	168 horas	192 horas
Controle negativo (C-)	7,78 ± 6,75	24,29 ± 0,67	37,54 ± 0,18	49,63 ± 3,38	56,16 ± 2,44	74,76 ± 3,24	85,09 ± 3,24	90,00 ± 0,00
0,125	1,88 ± 3,25	12,95 ± 11,43	24,65 ± 1,67	30,35 ± 8,78	31,89 ± 2,41	53,97 ± 5,97	62,60 ± 8,10	69,20 ± 10,15
0,25	0,00 ± 0,00	5,76 ± 5,27	17,62 ± 4,42	22,80 ± 6,39	27,72 ± 6,30	45,35 ± 5,97	55,09 ± 8,80	64,16 ± 10,34
0,5	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,97 ± 6,26	2,29 ± 2,39	2,89 ± 2,97	7,31 ± 2,84	12,05 ± 0,18	16,08 ± 2,99
1	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Controle positivo (C+)	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00

Fonte: autora (2023).

Conforme ilustrado na Tabela 5, nos ensaios de inibição do crescimento para o fitopatógeno em questão, constatou-se que todas as concentrações de óleo essencial aplicadas evidenciaram eficácia na contenção do desenvolvimento fúngico. Contudo, os dados associados à concentração de 1 mL/L sobressaem-se ao revelar a máxima inibição, acompanhada de um desvio padrão nulo, denotando uniformidade nos valores. Outro resultado a se destacar é pertencente ao controle positivo, que não apenas demonstra eficácia máxima na inibição do crescimento do fitopatógeno, mas também exibe um desvio padrão nulo, indicando a ausência de variações nos resultados para essa concentração.

A partir das medidas obtidas para o período de 192 horas, na Tabela 6, é mostrado o percentual inibitório acompanhado de sua concentração correspondente e exibindo-o para cada repetição do experimento, indicadas por F1, F2 e F3.

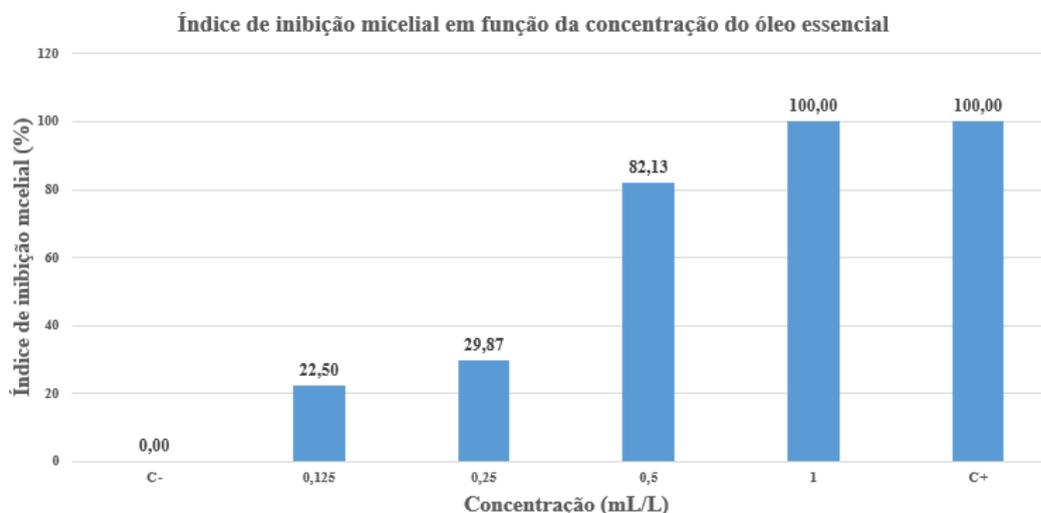
Tabela 6 - Percentual de inibição do crescimento do fungo *Fusarium pallidoroseum* em diferentes concentrações de óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*).

Concentração (mL/L)	Percentual inibitório (%)			
	F1	F2	F3	Média dos valores
Controle negativo (C-)	0	0	0	0
0,125	10,08	29,03	29,38	22,50
0,25	17,57	29,87	42,18	29,87
0,5	81,64	79,09	85,67	82,13
1,0	100	100	100	100
Controle positivo (C+)	100	100	100	100

Fonte: Autora (2023).

Na Figura 14, estão os valores médios do percentual de inibição de cada concentração. No referido gráfico, C- refere-se ao controle negativo, composto exclusivamente pelo meio de cultura, enquanto C+ representa o controle positivo, no qual o fungicida Tiabendazol (Tecto) está presente na concentração de 0,125 mL/L.

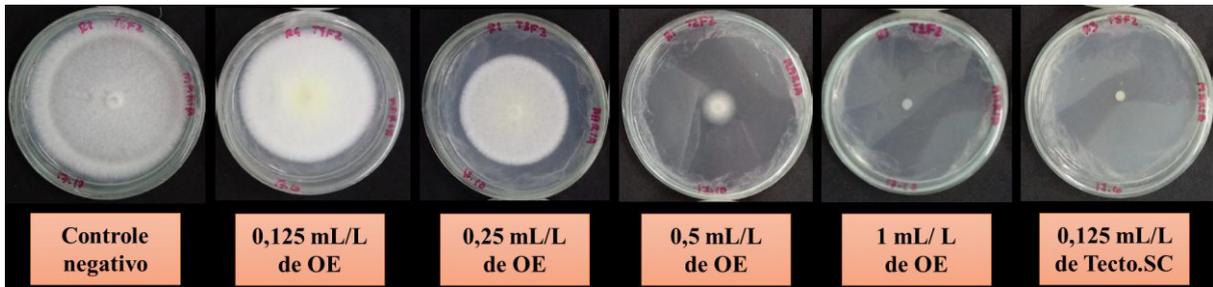
Figura 14 - Índice de inibição micelial em função da concentração para o fungo *Fusarium pallidoroseum*.



Fonte: autora (2023).

Na Figura 15, em concordância com o gráfico, é notório que ao se elevar a concentração do óleo essencial, há redução do desenvolvimento micelial, conforme pode ser comparado com o controle negativo, no qual somente o meio de cultura está presente.

Figura 15 - Evolução do crescimento do fungo *Fusarium pallidoroseum*.



Fonte: autora (2023).

Conforme o prefácio introdutório, o óleo essencial utilizado neste estudo é composto majoritariamente por neral e geranial, dois aldeídos monoterpênicos isômeros, cuja mistura forma o citral, que apresenta propriedades antifúngicas. Leite *et al* (2014) atesta isso ao verificar a inibição do crescimento do fungo *Candida albicans* quando em contato com o citral.

Na literatura, Sampaio *et al* (2020) investigou a atividade antifúngica de diferentes quimiotipos do óleo essencial de *Myrocarpus ovata* contra *F. pallidoroseum*. O estudo demonstrou que todos os quimiotipos exibiram eficácia, com ênfase nos compostos que possuíam majoritariamente geraniol, citral e (E)-nerolidol. O quimiotipo com citral na composição conseguiu inibir totalmente o crescimento do patógeno, atestando seu potencial antifúngico e corroborando com os resultados obtidos neste estudo.

Quanto ao modo de atuação do citral, a literatura não faz menção a um estudo específico que abordasse sua atuação contra esse fitopatógeno ou outro do mesmo gênero. Entretanto, Li *et al* (2015) propõe estudos para desvendar esse mecanismo frente ao fitopatógeno *Magnaporthe grisea*.

A análise aprofundada do mecanismo de ação revelou que o citral exerce seus efeitos antifúngicos por meio de uma via fisiológica específica, além de provocar modificações morfológicas nas hifas fúngicas. Notavelmente, observou-se uma influência marcante nos processos metabólicos dos fungos, impactando o metabolismo energético, a degradação da parede celular e a atividade de enzimas essenciais.

5.3 Testes de inibição do crescimento dos fungos com o óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon flexuosus*) no fitopatógeno *Lasiodiplodia caatingensis*

Com base nas medições realizadas a cada intervalo de 24 horas, na Tabela 7, é apresentada a evolução do crescimento do halo fúngico durante todo o período monitorado. Realizou-se o cálculo da média aritmética para os quatro tratamentos de cada concentração em cada repetição, além do desvio padrão.

Tabela 7 - Halo de crescimento em milímetros para do fungo *Lasiodiplodia caatingensis* na presença óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*) em diferentes concentrações em mL/L.

Concentração (mL/L)	Halo de crescimento (h)	
	24	48
Controle negativo (C-)	34,17 ± 3,90	90,00 ± 0,00
0,125	16,83 ± 4,37	65,38 ± 11,61
0,25	3,26 ± 4,32	26,27 ± 11,79
0,5	0,00 ± 0,00	2,06 ± 3,57
1	0,00 ± 0,00	2,19 ± 3,79
Controle positivo (C+)	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00

Fonte: autora (2023).

Nos ensaios de inibição do crescimento para o fitopatógeno específico, observou-se que todos os tratamentos exibiram eficácia na contenção do desenvolvimento fúngico. No entanto, é importante destacar que as concentrações de 1 mL/L e 0,5 mL/L revelaram uma contenção mais acentuada no desenvolvimento do fungo, além de exibirem um baixo desvio padrão, revelando que os dados coletados aproximam-se da média da amostra tomada. Outro ponto a se notar é que o controle positivo utilizando o fungicida também demonstrou a máxima eficácia na contenção do desenvolvimento do fitopatógeno.

A partir das medidas obtidas para o período de 48 horas, montou-se uma tabela (Tabela 8) a qual mostra a porcentagem de inibição acompanhada de sua concentração correspondente e exibindo-a para cada repetição do experimento, indicadas por L2, L3 e L4. Por último, a média aritmética entre esses resultados foi mensurada e inserida na tabela.

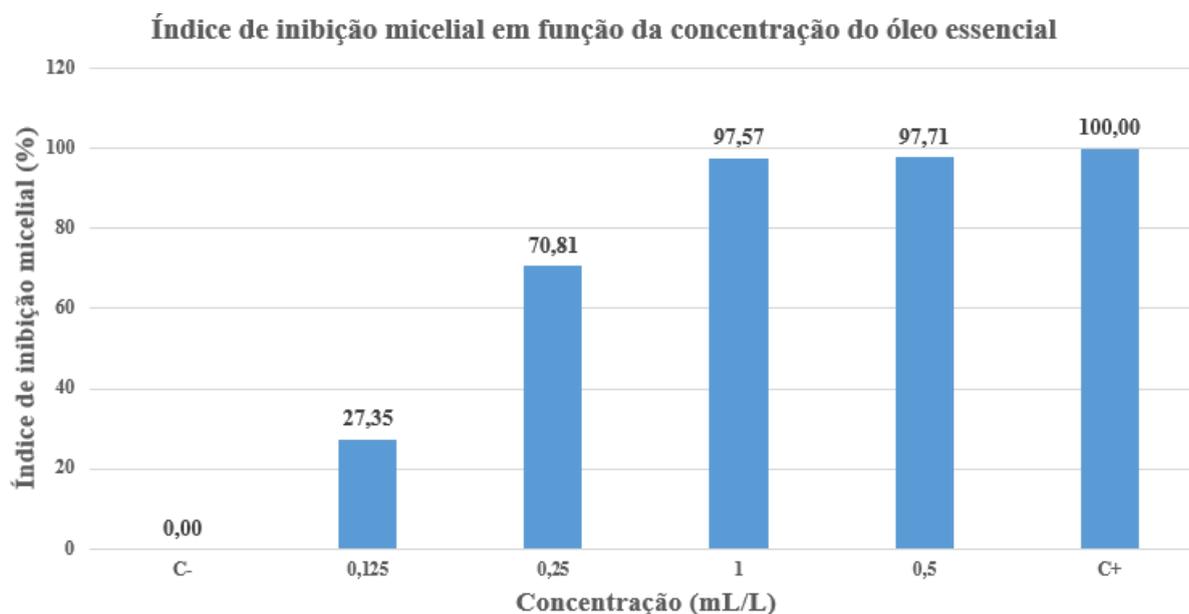
Tabela 8 - Percentual de inibição do crescimento para do fungo *Lasiodiplodia caatingensis* em diferentes concentrações de óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*).

Concentração (mL/L)	Percentual de inibição (%)			
	L2	L3	L4	Média dos valores
Controle negativo (C-)	0	0	0	0
0,125	12,72	36,46	32,87	27,35
0,25	69,59	58,37	84,47	70,81
0,5	100	93,13	100	97,71
1,0	92,70	100	100	97,57
Controle positivo (C+)	100	100	100	100

Fonte: autora (2023).

Por meio dos resultados mensurados, procedeu-se à elaboração de um gráfico (Figura 15), relacionando os valores médios às concentrações correspondentes. No gráfico, C- representa o controle negativo, no qual encontra-se somente o meio de cultura e C+ corresponde ao controle positivo, o qual apresenta o fungicida Tecto.SC na concentração de 0,125 mL/L.

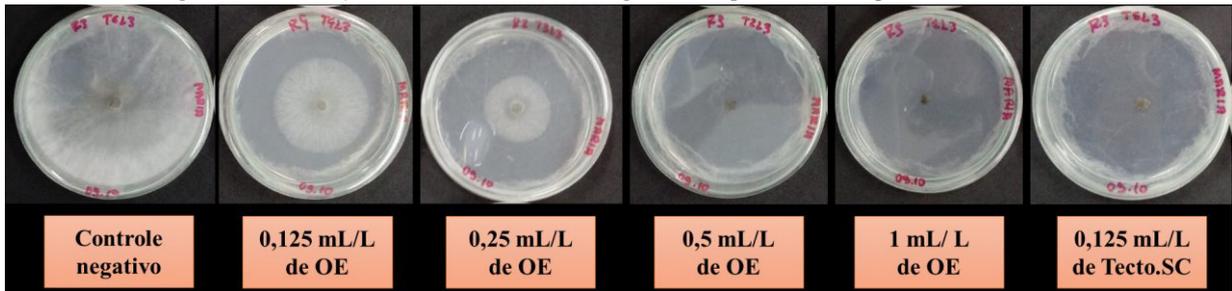
Figura 16 - Índice de inibição micelial em função da concentração para o fungo *Fusarium pallidoroseum*.



Fonte: autora (2023).

Na Figura 17, em consonância com o gráfico, é possível observar que ao se elevar gradativamente a concentração do óleo essencial, observa-se uma redução gradativa no desenvolvimento micelial. Essa diminuição pode ser comparada com o controle negativo, no qual somente o meio de cultura está presente.

Figura 17 - Evolução do crescimento do fungo *Lasiodiplodia caatinguensis*.



Fonte: autora (2023).

Devido às circunstâncias experimentais serem a mesma para este fungo e os outros fitopatógenos, compreende-se que a composição química do óleo essencial utilizado é responsável pela inibição do crescimento do micélio do fungo.

Em contraste com os outros fitopatógenos estudados, a literatura não cita tratamentos específicos com o citral ou outros compostos terpênicos desse óleo essencial para essa espécie. Isso pode ser justificado pela descoberta recente da espécie *L. caatinguensis* por Coutinho *et al* (2016) em comparação com os outros fungos deste estudo.

Entretanto, Peixoto *et al* (2018) investigou a atividade antifúngica do citral presente em óleo essencial de *Lippia alba* diante de um fitopatógeno do mesmo gênero, *Lasiodiplodia theobromae*. O citral apresentou-se muito efetivo no controle dessa espécie, inibindo integralmente seu crescimento, atestando seu potencial antifúngico.

A literatura não cita estudos específicos sobre o modo de atuação do citral frente a esse fungo. Entretanto Cai *et al* (2019) estuda esse tópico frente ao fitopatógeno *Zygosaccharomyces rouxii*, em seu estudo foi observado que o citral exibe notável atividade antifúngica, agindo predominantemente ao induzir perturbações na integridade e permeabilidade da membrana celular de *Z. rouxii*. Esses efeitos resultam em danos irreversíveis à parede celular e à membrana, além de desestruturar as proteínas da levedura e inibir sua síntese.

5.4 Análise dos dados coletados

Já que os experimentos foram conduzidos em triplicata, procedeu-se ao cálculo da média aritmética do percentual de inibição para cada fitopatógeno, sendo os resultados compilados na Tabela 9.

Tabela 9 - Percentual de inibição do crescimento micelial dos fitopatógenos (%)

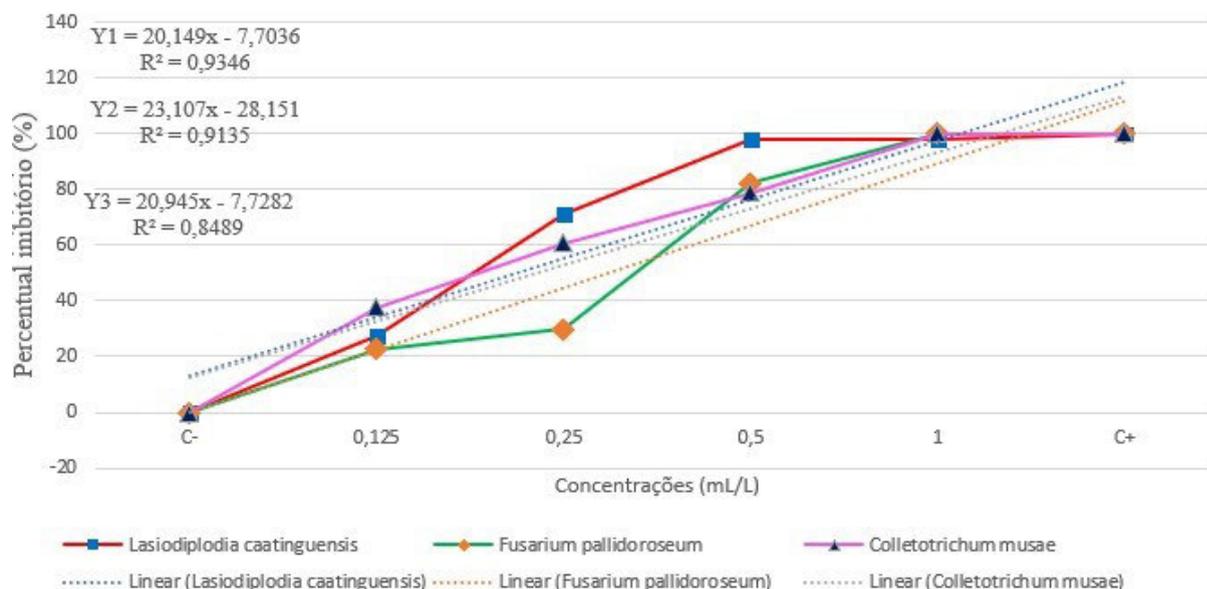
Concentração (mL /L)	Percentual de inibição para cada fitopatógeno (%)		
	<i>Colletotrichum musae</i>	<i>Fusarium pallidroseum</i>	<i>Lasioidiplodia caatingensis</i>
Controle negativo (C-)	0,00	0,00	0,00
0,125	37,67	22,50	27,35
0,25	60,50	29,87	70,81
0,5	78,73	82,13	97,71
1,0	100,00	100,00	97,57
Controle positivo (C+)	100,00	100,00	100,00

Fonte: autora (2023).

Com base nos dados registrados na Tabela 9, procedeu-se à elaboração de uma regressão linear (Figura 18) para cada conjunto de dados dos fungos. Por meio do *software Microsoft Excel* (2023) foi determinada a equação da reta e o coeficiente de determinação (R^2).

Figura 18 - Ajuste linear do percentual inibitório em função das concentrações do óleo essencial.

Ajuste linear do percentual inibitório em função das concentrações do óleo essencial



Fonte: autora (2023).

As equações das retas e seus respectivos R^2 para cada conjunto de dados de cada fitopatógeno foram compiladas na Tabela 10.

Tabela 10 - Equações da reta para cada ajuste linear em função e respectivos coeficientes de determinação.

Fitopatógeno	Equação da reta	Coefficiente de determinação (R^2)
<i>Colletotrichum musae</i>	$Y1 = 20,149x - 7,7036$	0,9346
<i>Fusarium pallidoroseum</i>	$Y2 = 23,107x - 28,151$	0,9135
<i>Lasiodiplodia caatinguensis</i>	$Y3 = 20,945x - 7,7282$	0,8489

Fonte: autora (2023).

O R^2 corresponde ao coeficiente de determinação, o qual é uma medida estatística que informa o quanto a variabilidade na variável dependente pode ser explicada pelos termos independentes em um modelo estatístico. Possuindo valores entre 0 e 1 (ou de 0% a 100%), o R^2 indica o grau de ajuste do modelo aos dados. Para um $R^2 = 0$, entende-se que o modelo não consegue explicar nenhuma variação nos dados, entretanto, um $R^2 = 1$ mostra que o modelo se ajusta perfeitamente aos dados, explicando toda a variabilidade observada. A partir disso, quanto mais próximo de 1 se encontrar o valor de R^2 , melhor o ajuste do modelo usado para o conjunto de dados analisado (AZEVEDO, 2016 ; LOPES 2003).

Neste estudo, é possível notar que os resultados obtidos demonstram coerência com o modelo estatístico empregado, apresentando mínimas variações entre os dados. Essa constatação é observada pela proximidade dos valores de R^2 em relação a 1. Por meio dessa análise, é possível associar que o aumento da concentração de óleo essencial empregado influencia o percentual de inibição do crescimento fúngico, diminuindo-o. O menor R^2 para o fungo *L. caatinguensis* pode ser esclarecido pelo fato de a concentração de 0,5 mL/L ter manifestado um valor superior de inibição frente à concentração de 1 mL/L.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nesta pesquisa evidenciam o potencial antifúngico do óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* sobre o crescimento dos fitopatógenos *Colletotrichum musae*, *Fusarium pallidoroseum* e *Lasiodiplodia caatinguensis*. A observação de inibição total ou próxima do total, demonstra, não apenas a eficácia antimicrobiana do óleo essencial, mas também sugere a possibilidade de sua aplicação prática como um agente antifúngico. Conforme pesquisa bibliográfica, tais efeitos podem ser atribuídos à presença do citral, uma vez que este é o constituinte majoritário do óleo e seu efeito antifúngico já foi comprovado. Diante dos resultados obtidos, torna-se essencial investigar o mecanismo de ação do citral frente a esses fitopatógenos, tendo em vista que já existem vários estudos que apresentam diferentes formas de atuação desse monoterpene sobre diferentes fitopatógenos.

REFERÊNCIAS

- ADUKWU, E.C. *et al.* Antimicrobial activity, cytotoxicity and chemical analysis of lemongrass essential oil (*Cymbopogon flexuosus*) and pure citral. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S. l.], p. 9619–9627, 12 jul. 2016.
- AGUIAR, Valéria do Nascimento. **Influência da temperatura e do período de molhamento na expressão da podridão da coroa causada por *Fusarium*, em bananas na pós-colheita.** 2019.
- ANTRACNOSE: (*Colletotrichum musae*). [S. l.], 2023. Disponível em: https://www.agrolink.com.br/problemas/antracnose_2552.html. Acesso em: 27 nov. 2023.
- ALEXOPOULOS, C.J. **Introductory mycology.** [S. l.: s. n.], 1952.
- AZEVEDO, P.R.M. **Introdução à Estatística.** 3. ed. [S. l.: s. n.], 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufrn.br/bitstream/123456>
- BIZZO, H.R. *et al.* Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, [S. l.], v. 32, n. 3, p. 588-594, 2 abr. 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/QwJBsdNzGmZSq4jKmhVdNj/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 22 nov. 2023.
- BORGES, D. I. *et al.* Efeito de extratos e óleos essenciais de plantas na germinação de urediniosporos de *Phakopsora pachyrhizi*. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 15, p. 325-331, 2013.
- BUDETIĆ, M. *et al.* Review of Characteristics and Analytical Methods for Determination of Thiabendazole. **Molecules**, v. 28, n. 9, p. 3926, 6 maio 2023.
- CAI, Rui *et al.* Antifungal activity and mechanism of citral, limonene and eugenol against *Zygosaccharomyces rouxii*. **Lwt**, v. 106, p. 50-56, 2019.
- CHAUDHARY, A.M. *et al.* Isolation and characterization of fungi associated with deterioration of papaya fruits. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, [S. l.], v. 9, n. 4, p. 3434-3437, 21 jun. 2020. Disponível em: <https://www.phytojournal.com/archives?year=2020&vol=9&issue=4&ArticleId=12161>. Acesso em: 22 nov. 2023.
- CHOWDHURY, A.R. *et al.* Chemical Composition of the Essential Oil of *Cymbopogon flexuosus* (Steud) Wats. Growing in Kumaon Region. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, [S. l.], p. 588-593, 12 mar. 2003. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/0972060X.2010.10643867>. Acesso em: 12 dez. 2023.
- CIPRIANO, A.K.A.L. *et al.* Proteomic analysis of responsive stem proteins of resistant and susceptible cashew plants after *Lasiodiplodia theobromae* infection. **Journal of proteomics**, v. 113, p. 90-109, 2015.

CORDEIRO, Z.J.M. *et al.* Doenças da banana. **Informe Agropecuário**, [S. l.], v. 26, p. 12-16, 2005. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/653130/1/ia-228-doencas-pos-colheita-de-frutas-16-20.pdf>. Acesso em: 21 nov. 2023.

COUTINHO, I.B.L. *et al.* Diversity of genus *Lasiodiplodia* associated with perennial tropical fruit plants in northeastern Brazil. **Plant Pathology**, [S. l.], p. 90-104, 4 jun. 2016. Disponível em: <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ppa.12565>. Acesso em: 4 dez. 2023.

CRAVEIRO, A.A. *et al.* Óleos essenciais e Química Fina. **Química Nova**, [S. l.], p. 224-228, 20 nov. 1992. Disponível em: [http://submission.quimicanova.s bq.org.br/qn/qnol/1993/vol16n3/v16_n3_%20\(9\).pdf](http://submission.quimicanova.s bq.org.br/qn/qnol/1993/vol16n3/v16_n3_%20(9).pdf). Acesso em: 21 nov. 2023.

CROUS, P.W. *et al.* Names of Phytopathogenic Fungi: A Practical Guide. **Phytopathology**, [S. l.], p. 1500-1508, 25 out. 2021. Disponível em: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/full/10.1094/PHYTO-11-20-0512-PER>. Acesso em: 22 nov. 2023.

DE COSTA, D.M. *et al.* Effects of sodium bicarbonate on pathogenicity of *Colletotrichum musae* and potential for controlling postharvest diseases of banana. **Postharvest Biology and Technology**, [S. l.], p. 54-63, 11 fev. 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0925521412000403>. Acesso em: 22 nov. 2023.

DELAYE, L. *et al.* Endophytes versus biotrophic and necrotrophic pathogens—are fungal lifestyles evolutionarily stable traits?. **Fungal Diversity**, [S. l.], p. 125–135, 17 maio 2013. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13225-013-0240-y>. Acesso em: 28 nov. 2023.

DE MORAIS, L.A.S. *et al.* **Óleos essenciais no controle fitossanitário**. Controle biológico de doenças de plantas. Bettiol, W. y Morandi, MAB, eds. Centro Nacional de Pesquisa de Defesa da Agricultura da Embrapa, Brasília, DF. 337 pp, 2009.

DE SILVA, Dilani D. *et al.* Life styles of *Colletotrichum* species and implications for plant biosecurity. **Fungal Biology Reviews**, v. 31, n. 3, p. 155-168, 2017.

DUTRA, L. *et al.* ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE EUCALIPTO NO CONTROLE DE *ASPERGILLUS FLAVUS*: ESTUDO PILOTO. **Salão do Conhecimento**, v. 9, n. 9, 2023.

FINLAY, A.R. *et al.* The relative importance of *Colletotrichum musae* as a crown-rot pathogen on Windward Island bananas. **Plant Pathology**, [S. l.], p. 67-74, 9 fev. 1993. Disponível em: <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-3059.1993.tb01471.x>. Acesso em: 1 dez. 2023.

- FLORA e Funga do Brasil. [S. l.], 2023. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/ConsultaPublicaUC/ResultadoDaConsultaNovaConsulta.do#CondicaoTaxonCP>. Acesso em: 21 nov. 2023.
- FONSECA, M. C. M. *et al.* Potencial de óleos essenciais de plantas medicinais no controle de fitopatógenos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, p. 45–50, jan. 2015.
- GANJEWALA, D. *et al.* Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* Steud.) Wats essential oil: overview and biological activities. **Recent Progress in Medicinal Plants**, v. 37, p. 235-271, 2013.
- GARCIA, R. *et al.* Antimicrobial activity and potential use of monoterpenes as tropical fruits preservatives. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 163-168, 2008.
- GHINI, R. *et al.* **Resistência de fungos a fungicidas**. [S. l.: s. n.], 2002. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/13231/resistencia-de-fungos-a-fungicidas>. Acesso em: 28 nov. 2023.
- HERATH, H. *et al.* In vitro application of selected essential oils and their major components in controlling fungal pathogens of crown rot in Embul banana (*Musa acuminata*–AAB). **International journal of food science & technology**, v. 43, n. 3, p. 440-447, 2008.
- HOWLETT, B. J. Pathogenicity genes of phytopathogenic fungi. **Molecular Plant Pathology**, [S. l.], p. 241-255, 21 dez. 2001. Disponível em: <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1464-6722.2001.00070.x>. Acesso em: 22 nov. 2023.
- IDRIS, F.M. *et al.* Essential oils to control *Colletotrichum musae* in vitro and in vivo on banana fruits. **American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science**, v. 15, n. 3, p. 291-302, 2015.
- JÚNIOR, I. T. S. *et al.* Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. **Revista Biotemas**, v. 22, n. 3, p. 77-83, 2009.
- KAKARLA, S. *et al.* Antimicrobial activity of essential oils of four lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* Steud) varieties. **Med. Aromat. Plant Sci. Biotechnol**, v. 3, n. 1, p. 107-09, 2009.
- LEITE, M.C.A. *et al.* Evaluation of Antifungal Activity and Mechanism of Action of Citral against *Candida albicans*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, [S. l.], p. 1-9, 28 ago. 2014. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2014/378280/>. Acesso em: 3 dez. 2023.
- LESLIE, J.F. *et al.* **The *Fusarium* Laboratory Manual**. [S. l.: s. n.], 2006. Disponível em: https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=Yu3cBAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR3&dq=fusarium+laboratory>manuals&ots=3M_37KPg2s&sig=e7DUAAcT4XCJXIpm-qP94VjFE1g&redir_esc=y#v=onepage&q=fusarium%20laboratory%20manuals&f=false. Acesso em: 14 nov. 2023.

LI, P. *et al.* Global diversity and biogeography of potential phytopathogenic fungi in a changing world. **Nature Communications**, [S. l.], p. 1-13, 2 out. 2023. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41467-023-42142-4>. Acesso em: 1 dez. 2023.

LI, R. *et al.* Naturally produced citral can significantly inhibit normal physiology and induce cytotoxicity on *Magnaporthe grisea*. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 118, p. 19-25, 2015.

LOPES, L.F.D. **APOSTILA ESTATÍSTICA**. [S. l.: s. n.], 2003. Disponível em: <https://www.inf.ufsc.br/~vera.carmo/LIVROS/LIVROS/Luis%20Felipe%20Dias%20Lopes.pdf>. Acesso em: 5 dez. 2023.

MADIGAN, M. *et al.* **Microbiologia de Brock**. 14. ed. [S. l.: s. n.], 2016.

MAIA, L. C. *et al.* Diversity of Brazilian Fungi. **Rodriguésia**, v. 66, n. 4, p. 1033–1045, 2015.

MYCOBANK. [S. l.], 2004. Disponível em: <https://www.mycobank.org/>. Acesso em: 21 nov. 2023.

OKUNGBOWA, F. I *et al.* *Fusarium* wilts: An overview. **Environ. Res. J**, v. 6, n. 2, p. 83-102, 2012.

OLIVEIRA, E.S. *et al.* Alternativas a fungicidas sintéticos no controle da antracnose da banana. **Summa Phytopathologica**, [S. l.], p. 340-350, 6 out. 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/sp/a/VsTJ6jqVfmGwgJGJk35KHRL/?lang=pt#>. Acesso em: 21 nov. 2023.

OMAR, N. H. *et al.* Characterization and pathogenicity of *Fusarium* species associated with leaf spot of mango (*Mangifera indica* L.). **Microbial Pathogenesis**, [S. l.], p. 362-368, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0882401016305897>. Acesso em: 21 nov. 2023.

PATIL,S.V. Fungal disease of fruit crops banana. 08 dez 2021. Apresentação do Power Point. Disponível em: https://pt.slideshare.net/vaishalidandge3/fungal-diseases-of-fruit-crops-banana?from_search=15

PATIL,S.V. Fungal disease of fruit crops papaya. 08 dez 2021. Apresentação do Power Point. Disponível em: https://pt.slideshare.net/vaishalidandge3/fungal-diseases-of-fruit-crops-banana?from_search=15

PEIXOTO, M.G. *et al.* Activity of essential oils of *Lippia alba* chemotypes and their major monoterpenes against phytopathogenic fungi. **Bioscience Journal**, v. 34, n. 5, p. 1136-1146, 2018.

PEREIRA, M. C. *et al.* Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, p. 731-738, 2006.

PEREIRA, M. N. *et al.* Efeito de óleos essenciais sobre o fungo *Thielaviopsis paradoxa*. **Ambiência**, v. 14, n. 3, p. 513-521, 2018.

PESSOA, W.R.L.S. **Influência da temperatura e período de molhamento no desenvolvimento da antracnose e nas características físico-químicas da banana**. 2005. 60 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

PRIYASHANTHA, A.K.H *et al.* Fungal Endophytes: An Alternative Biocontrol Agent against Phytopathogenic Fungi. **Encyclopedia**, [S. l.], p. 759-780, 19 jun. 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2673-8392/3/2/55#B6-encyclopedia-03-00055>. Acesso em: 1 dez. 2023.

QUINTAN, C.P.F. *et al.* PANORAMA DO AGRONEGÓCIO EXPORTADOR BRASILEIRO. **REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR**, [S. l.], p. 1-23, 18 jul. 2023. Disponível em: <https://recima21.com.br/index.php/recima21/article/view/3642>. Acesso em: 30 nov. 2023.

SAMPAIO, T.S. *et al.* Antifungal activity of essential oils of *myrcia ovata* chemotypes and their major compounds on phytopathogenic fungi. **Biosci. j.(Online)**, p. 364-375, 2020.

SALVATORE, M.M *et al.* The thin line between pathogenicity and endophytism: The case of *Lasiodiplodia theobromae*. **Agriculture**, v. 10, n. 10, p. 488, 2020.

SCARIOT, F.J. *et al.* Activity of monoterpenoids on the in vitro growth of two *Colletotrichum* species and the mode of action on *C. acutatum*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, [S. l.], p. 1-7, 30 ago. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048357520301930>. Acesso em: 4 dez. 2023.

SÉÏDE, M. *et al.* The fungicide thiabendazole causes apoptosis in rat hepatocytes. **Toxicology in Vitro**, v. 32, p. 232-239, 2016.

SHARMA, S. *et al.* **Modern Approaches in Plant Pathology**. [S. l.: s. n.], 2023. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Virupakshi-Hiremata-2/publication/373434621_Book_PDF_-_Modern_Approaches_in_Plant_Pathology/links/64eb8a6b0453074fbdb80e77/Book-PDF-Modern-Approaches-in-Plant-Pathology.pdf#page=80. Acesso em: 1 dez. 2023.

SILVA, F.R. **Análise genômica, desenvolvimento de nanofungicidas e avaliação de óleos essenciais e nanopartículas funcionalizadas visando o controle de *Monosporascus cannonballus* e *Macrophomina phaseolina* em meloeiro**. 2022. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, [S. l.], 2022.

SILVA, L.L. *et al.* *Colletotrichum*: species complexes, lifestyle, and peculiarities of some sources of genetic variability. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S. l.], p. 1891–1904, 14 jan. 2020. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-020-10363-y>. Acesso em: 6 dez. 2023.

SPECIES Fungorum. [S. l.], 2023. Disponível em: <https://www.speciesfungorum.org/Names/Names.asp>. Acesso em: 22 nov. 2023.

STADLER, F. **Antifúngicos naturais e tiabendazol no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Alternaria alternata* e *Fusarium solani***. 2018. 77 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2018.

SU, Y.Y. *et al.* Epitypification of *Colletotrichum musae*, the causative agent of banana anthracnose. **Mycoscience**, [S. l.], p. 376–382, 11 maio 2011. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10267-011-0120-9>. Acesso em: 20 nov. 2023.

WEIR, B.S. *et al.* The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. **Studies in Mycology**, [S. l.], v. 73, p. 115–180, 21 ago. 2012. Disponível em: <https://www.ingentaconnect.com/content/wfbi/sim/2012/00000073/00000001/art00006;jsessionid=155010g4qbhr.x-ic-live-01>. Acesso em: 13 nov. 2023.

ZACCARDELLI, M. *et al.* Characterization of Italian Isolates of *Fusarium semitectum* from Alfalfa (*Medicago sativa* L.) by AFLP Analysis, Morphology, Pathogenicity and Toxin Production. **Journal of Phytopathology**, [S. l.], p. 454-460, 20 jul. 2006. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1439-0434.2006.01128.x>. Acesso em: 21 nov. 2023.

ZAKARIA, L. *et al.* *Fusarium* species associated with fruit rot of banana (*Musa spp.*), papaya (*Carica papaya*) and guava (*Psidium guajava*). **Malaysian Journal of Microbiology**, v. 8, n. 2, p. 127-130, 2012.

ZAKARIA, L. *Fusarium* Species Associated with Diseases of Major Tropical Fruit Crops. **Horticulturae**, [S. l.], p. 2-32, 1 mar. 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2311-7524/9/3/322#B81-horticulturae-09-00322>. Acesso em: 30 nov. 2023.