

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE ÓLEOS
ESSENCIAIS SOBRE *Fusarium solani* e *Meloidogyne enterolobii*

TATIANE PAULINO DA CRUZ

ALEGRE

2013

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFES**



TATIANE PAULINO DA CRUZ

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE ÓLEOS
ESSENCIAIS SOBRE *Fusarium solani* e *Meloidogyne enterolobii***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Produção Vegetal, na área de concentração de Fitossanidade.

APROVADA: 20 de Fevereiro de 2013.

DSc. Waldir Cintra de Jesus Junior
Examinador Interno

DSc. Ricardo Moreira de Souza
Examinador Externo

DSc. Vagner Tebaldi de Queiroz
Co-orientador

DSc. Vicente Martins Gomes
Examinador Externo

DSc. Fábio Ramos Alves
Orientador

Dedicatória

À minha mãe **Sônia Maria Botelho da Cruz** e ao meu pai **João Batista da Cruz**.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, pela vida.

Aos meus pais Sônia Maria Botelho da Cruz e João Batista da Cruz pelo apoio e dedicação.

A minha irmã Taís Paulino da Cruz e demais familiares pelo incentivo.

Ao professor DSc. Fábio Ramos Alves meu orientador, pelo apoio, dedicação, amizade e confiança depositada.

Ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

Aos professores conselheiros DSc. Waldir Cintra de Jesus Junio, DSc. Antônio Fernando de Souza e DSc. Adilson Vidal Costa pela colaboração, sugestões e esclarecimentos.

Ao Professor DSc. Celson Rodrigues pela colaboração e sugestões.

Aos eternos Amigos: Lilian Katiany Castelo Rabello Zinger, Lucas Pilon, Fernando Domingos Zinger, Flávia André Martins, Leonardo Alvarez Junger, Vera Lúcia Alvarez, Rebeca Leal Marcellos, Tatiana Fiorotti.

A todos os amigos que direta ou indiretamente me ajudaram Rodolfo Ferreira Mendonça, Yanitssa Paiva, André Kulitz Marins, Tiago de Souza Marçal; obrigada pela força e amizade.

Aos demais professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal.

Agradeço a todos que contribuíram para que este trabalho tivesse sucesso. Obrigada por poder contar com vocês, e desculpe aqueles cujos nomes não mencionei.

BIOGRAFIA

TATIANE PAULINO DA CRUZ, filha de Sônia Maria Botelho da Cruz e João Batista da Cruz, nasceu em Caratinga - MG, em 01 de abril de 1986.

Em fevereiro de 2011, graduou-se em Agronomia pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Alegre – ES.

Em março de 2011, ingressou no Programa de Mestrado em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre – ES, concentrando seus estudos na Área de Fitossanidade/Fitopatologia, submetendo-se a defesa de dissertação em fevereiro de 2013.

RESUMO

CRUZ, Tatiane Paulino da. Universidade Federal do Espírito Santo, Fevereiro de 2013. **Avaliação da atividade biológica de óleos essenciais sobre *Fusarium solani* e *Meloidogyne enterolobii***. Orientador: DSc. Fábio Ramos Alves. Co-orientadores: DSc. Adilson Vidal Costa.

O declínio da goiabeira tem sido responsável pela erradicação de muitos pomares em âmbito nacional, o que resulta em elevada perda econômica aos produtores. Devido a crescente pressão da sociedade por produtos mais saudáveis, livres de produtos químicos e com aumento da importância dos óleos essenciais no manejo de doenças de plantas, objetivou-se com este trabalho determinar a composição química e avaliar os efeitos fungitóxicos dos óleos essenciais de *Eucalyptus citriodora* (eucalipto), *E. grandis* (eucalipto), *Cymbopogon citratus* (capim-limão), *Cymbopogon winterianus* (citronela), *Cinnamomum zeylanicum* (Canela), *Eucalipto comercial*, *Rosmarinus officinalis* (alecrim), *Ocimum gratissimum* (alfavaca-cravo) e *Syzygium aromaticum* (cravo-da-india) sobre três isolados de *Fusarium solani* e *M. enterolobii*. O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação, utilizando um aparelho tipo Clevenger, e o seu rendimento foi determinado em relação à massa seca da planta. As análises de cromatografia gasosa e cromatografia gasosa com detector de massas de óleos essenciais levaram à identificação dos compostos. Para avaliar o efeito dos óleos essenciais no crescimento micelial, esporulação e germinação de esporos do fungo, foram utilizadas alíquotas de 5; 10; 15; 20; 25 e 30 µL dos óleos essenciais que foram distribuídas na superfície do meio de cultura BDA contido em placas de Petri antes da repicagem do fungo. Para a avaliação do efeito dos óleos sobre a eclosão e mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) do nematóide foram utilizadas suspensões aquosas contendo 200 ovos ou 200 J2 nas quais foram adicionadas as mesmas alíquotas dos óleos essenciais das espécies botânicas mencionadas anteriormente. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado num esquema fatorial 9 x 6 + 1, (nove óleos, seis alíquotas e uma testemunha adicional) com 5 repetições. A menor alíquota dos óleos essenciais de cravo-da-índia, canela e alfavaca-cravo inibiram em mais de 90% a germinação de esporos, o crescimento micelial e a esporulação dos isolados do fungo assim como a eclosão de J2, já para os óleos de eucalipto, capim limão, citronela a inibição foi superior a 90% a partir da alíquota de 15 µl,

o óleo de alecrim foi o que apresentou o pior resultado inibindo em 50% o desenvolvimento dos isolados do fungo.

Palavras-chave: atividade fungicida; biocontrole; nematicida, óleo volátil.

ABSTRAT

CRUZ, Tatiane Paulino da. Universidade Federal do Espírito Santo, Fevereiro de 2013. **Evaluation of biological activity of essential oils on *Fusarium solani* and *Meloidogyne enterolobii*.** Orientador: DSc. Fábio Ramos Alves. Co-orientadores: DSc. Adilson Vidal Costa.

The decline of guava has been responsible for the eradication of many orchards nationwide, resulting in high economic loss to producers. Due to increasing pressure from society for healthier products, free from chemicals and to increase the importance of essential oils in the management of plant diseases, the aim of this study was to determine the chemical composition and fungitoxic evaluate the effects of essential oils of *Eucalyptus citriodora* (eucalyptus), *E. grandis* (eucalyptus), *Cymbopogon citratus* (lemon grass), *Cymbopogon winterianus* (lemongrass), *Cinnamomum zeylanicum* (Cinnamon), *Eucalyptus commercial Rosmarinos officinalis* (rosemary), *Ocimum gratissimum* (basil-clove) and *Syzygium aromaticum* (clove india) on three isolates of *Fusarium solani* and *M. enterolobii*. The essential oil was obtained by hydrodistillation using a Clevenger type apparatus, and its yield was determined relative to the dry weight of the plant. The analysis by gas chromatography and gas chromatography with mass detector of essential oils led to the identification of compounds. To evaluate the effect of essential oils on mycelial growth, sporulation and germination of spores of the fungus were used aliquots of 5, 10, 15, 20, 25 and 30 µl of essential oils that were distributed on the surface of PDA culture medium contained in Petri dishes before subculturing the fungus. To evaluate the effect of oil on hatching and mortality of second stage juveniles (J2) of the nematode were used aqueous suspensions containing 200 eggs or 200 J2 which were added in the same rates of essential oils from botanicals mencinadas the previously. The experimental design was completely randomized with a 9 x 6 + 1, (nine oils, six aliquots and an additional control) with 5 repetitions. The lowest rate of essential oils of clove, cinnamon and clove basil-inhibited by more than 90% spore germination, mycelial growth and sporulation of the fungus isolates as well as the emergence of J2, as for oils eucalyptus, lemongrass, citronella inhibition was greater than 90% from the rate of 15 µl, rosemary oil showed the worst result in 50% inhibiting the development of the fungus isolates.

Keywords: fungicidal activity; biocontrol; nematicide, volatile oil.

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Plantas cujos óleos essenciais apresentam atividade biológica contra microrganismos patogênicos.	23
Tabela 2 - Relação das espécies vegetais com suas denominações vulgar e científica e parte da planta utilizada para extração dos óleos essenciais. Alegre, ES, 2012.	27
Tabela 3 - Constituintes dos óleos essenciais de nove espécies botânicas identificadas por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas e seus respectivos teores expressos em normalização de área (%), Alegre, ES, 2012.	32
Tabela 4 - Diâmetro dos halos miceliais (cm) de <i>Fusarium solani</i> UENF/CF 163, isolado de raiz de goiabeira, em resposta à utilização de diferentes alíquotas (μL) dos óleos essenciais de nove espécies botânicas. Alegre, ES, 2012.	46
Tabela 5 - Diâmetro dos halos miceliais (cm) de <i>Fusarium solani</i> UENF/CF 241, isolado de raiz de goiabeira, em resposta ao emprego de diferentes alíquotas (μL) dos óleos essenciais de nove espécies botânicas. Alegre, ES, 2012.	47
Tabela 6 - Diâmetro dos halos miceliais (cm) de <i>Fusarium solani</i> UENF/CF 295, isolado de raiz de goiabeira, em resposta ao emprego de diferentes alíquotas (μL) dos óleos essenciais de nove espécies botânicas. Alegre, ES, 2012.	48
Tabela 7 - Número médio de esporos produzidos por <i>Fusarium solani</i> isolado UENF/CF 163, obtidos a partir de raízes de goiabeira cv. Paluma com sintomas de declínio, em resposta ao tratamento com diferentes alíquotas (μL) dos óleos essenciais de nove espécies botânicas. Alegre, ES, 2012.	50
Tabela 8 - Número médio de esporos produzidos por <i>Fusarium solani</i> isolado UENF/CF 241, obtidos a partir de raízes de goiabeira cv. Paluma com sintomas de declínio, em resposta ao tratamento com diferentes alíquotas (μL) dos óleos essenciais de nove espécies botânicas. Alegre, ES, 2012.	51

Tabela 9 – Número médio de esporos produzidos por *Fusarium solani* isolado UENF/CF 295, obtidos à partir de raízes de goiabeira cv. Paluma com sintomas de declínio, em resposta ao tratamento com diferentes alíquotas (μL) dos óleos essenciais de nove espécies botânicas. Alegre, ES, 2012.52

Tabela 10 – Porcentagem de inibição da germinação de esporos de *Fusarium solani* UENF/CF 163, obtidos à partir de raiz de goiabeira cv. Paluma com sintomas de declínio, em resposta ao tratamento com diferentes alíquotas (μL) dos óleos essenciais de nove espécies botânicas. Alegre, ES, 2012.....53

Tabela 11 – Porcentagem de inibição da germinação de esporos de *Fusarium solani* UENF/CF 241, obtidos à partir de raiz de goiabeira cv. Paluma com sintomas de declínio, em resposta ao tratamento com diferentes alíquotas (μL) dos óleos essenciais de nove espécies botânicas. Alegre, ES, 2012.....54

Tabela 12- Porcentagem de J2 de *M. enterolobii* mortos após 24 horas de exposição a óleos essenciais de nove espécies botânicas. Alegre, ES, 2012.57

Tabela 13- Porcentagem de J2 de *M. enterolobii* eclodidos após 21 dias de exposição a diferentes óleos essenciais. Alegre, ES, 2012.58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Aparelho Clevenger acoplado ao condensador para extração de óleos essenciais.	27
Figura 2 – Cromatografo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas para identificação dos óleos essenciais.....	28
Figura 3- Tubos tipo eppendorf contendo óleos essenciais e juvenis de segundo estágio (J2) de <i>M. enterolobii</i>	30
Figura 4 – Número médio de esporos de isolados de <i>Fusarium solani</i> (isolados UENF/CF 163, UENF/CF241 e UENF/CF 295) submetidos a diferentes alíquotas (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 µl) dos óleos essenciais de <i>Eucalyptus</i> sp., <i>Eucalyptus citriodora</i> , <i>Eucalyptus grandis</i> , <i>Rosmarinus officinales</i> . Alegre, ES, 2012.	38
Figura 5 - Crescimento micelial (cm) de três isolados de <i>Fusarium solani</i> (isolados UENF/CF 163, UENF/CF241 e UENF/CF 295) submetidos a diferentes alíquotas (0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 µl) dos óleos essenciais de <i>Eucalyptus</i> sp., <i>Eucalyptus citriodora</i> , <i>Eucalyptus grandis</i> , <i>Rosmarinus officinales</i> , <i>Cymbopogon winterianus</i> e <i>Cymbopogon citratus</i> . Alegre, ES, 2012.	39
Figura 6 – Porcentagem de inibição da germinação de esporos (%) de isolados de <i>Fusarium solani</i> (isolados UENF/CF 163, UENF/CF241 e UENF/CF 295) submetidos a diferentes alíquotas (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 µl) dos óleos essenciais de <i>Eucalyptus</i> sp., <i>Eucalyptus citriodora</i> , <i>Eucalyptus grandis</i> , <i>Rosmarinus officinales</i> , <i>Cymbopogon winterianus</i> e <i>Ocimum gratissimum</i> . Alegre, ES, 2012.	40

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1 A cultura da goiabeira.....	17
2.2 <i>Fusarium solani</i>	17
2.3 <i>Meloidogyne enterolobii</i>	19
2.4 O declínio da goiabeira	20
2.5 Utilizações de óleos essenciais no manejo de fitonematoídes e fungos	22
3.1. Obtenção dos óleos essenciais.....	27
3.2. Caracterização química	28
3.3. Obtenção dos isolados de <i>Fusarium solani</i>	29
3.4. Obtenção dos juvenis de segundo estágio (J2) de <i>M. enterolobii</i>	29
3.5. Bioatividade dos óleos essenciais na inativação ou morte de J2 de <i>M. enterolobii</i> ..	29
3.8. Bioatividade dos óleos essenciais na esporulação de <i>F. solani</i>	31
3.9. Delineamento experimental	31
4.1. Composição química do óleo essencial	32
4.2. Efeito fungitóxico dos óleos essenciais	38
4.3. Mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>M. enterolobii</i>	55
5. COSIDERAÇÕES FINAIS.	59
6. CONCLUSÕES	59
7. REFERÊNCIAS	60

1. INTRODUÇÃO

A goiabeira (*Psidium guajava* L.) pertence à classe Dicotyledoneae, ordem Myrtiliflorae, subordem Myrtineae, família Myrtaceae e gênero *Psidium*, e é originária da América tropical, mais precisamente na região entre o México e o Peru (ROZANE et al., 2009). No Brasil, o cultivo dessa espécie ocupa uma extensão geográfica de aproximadamente 15.012 ha, com produção média de 328.255 toneladas, concentrada principalmente nas regiões sudeste e nordeste do país (IBRAF, 2012).

A expansão das áreas de produção da goiabicultura no Brasil trouxe alguns problemas fitossanitários, os quais se agravaram mais nas grandes áreas onde há o predomínio da monocultura (GOMES, 2007; PEREIRA et al. 2009). Atualmente, uma das principais causas de redução da produção de goiabas é o declínio da goiabeira, doença complexa causada pelo parasitismo de *Meloidogyne enterolobii* Yang e Eisenback, 1983, que predispõe a planta à podridão radicular causada pelo fungo *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. (GOMES et al 2011). Essa doença já foi responsável pela erradicação de aproximadamente 5.000 ha de pomares de goiaba em âmbito nacional, o que resultou em perdas aos produtores de aproximadamente US\$ 70 milhões de dólares (PEREIRA et al. 2009; GOMES, 2012).

O *M. enterolobii* infecta as raízes da goiabeira causando hipertrofismo das mesmas, induzindo a formação de galhas radiculares; como consequência ocorre redução na absorção de água e nutriente, o que culmina com alterações na parte aérea que podem ser confundidos com sintomas de deficiência nutricional; Outros sintomas comuns são: bronzeamento dos bordos das folhas e amarelecimento, queda das folhas e morte da planta (SOUZA et al., 2006; GOMES, 2007).

O fungo *F. solani* é causador de podridão de raízes e murcha em plantas e ataca algumas culturas como *Capsicum annum* L. (Pimentão), *Coffea arabica* L. (Cafeeiro), *Cucumis nilo* L. (Melão), *Glycyne max* Mirr. (Soja), *Gosypium hiscutum* L. (Algodão), *lycopersicum*) Mill. (Tomateiro), *Phaseolus vulgaris* L. (Feijão), (*Solanum tuberosum* L. (Batata) e *Zea mays* L. (Milho) (CAMARGO et al., 1995).

No território brasileiro existe uma considerável variedade na flora e, por esse motivo, os recursos naturais estão sendo pesquisados como potencial para o tratamento de doenças humanas, de animais e de vegetais. Essa busca por produtos naturais tem se intensificado mais devido à crescente pressão da sociedade por alimentos mais saudáveis e

34 pela preservação do meio ambiente, o que tem incentivado as pesquisas que visam o uso de
35 métodos alternativos no controle fitossanitário. Neste sentido, a utilização de extratos
36 vegetais e óleos essenciais para o manejo de fitopatógenos tem se tornado maior nos
37 últimos anos (ZACARONI et al, 2009; SOYLU et al., 2010; FREIRE et al., 2011; LIMA et
38 al. 2012).

39 O manejo de patógenos de solo não é tarefa fácil; o emprego de produtos químicos,
40 por exemplo, como os nematicidas e fungicidas sintéticos tem se mostrado cada vez mais
41 desaconselhável, pois são produtos caros, muito tóxicos, e que podem contaminar solo e
42 águas subterrâneas (KIMATI et al., 2005).

43 A rotação de culturas é uma das principais táticas de manejo de patógenos de solo,
44 porém, na maioria das vezes, é rejeitada pelos produtores devido à necessidade de se obter
45 lucros e, nem sempre, as plantas indicadas para rotação têm valor comercial. Vale ressaltar
46 que, o emprego de variedades resistentes pode se tornar um problema se esse uso for
47 contínuo, pois podem surgir populações do patógeno capazes de parasitar essas plantas.
48 Além disso, não há variedades comerciais resistentes a todas as espécies de nematoides e
49 fungos, como *Fusarium* spp. (CAMARGO e BERGAMIM FILHO, 1995).

50 Outras táticas de manejo, como controle biológico, vem sendo bastante estudadas,
51 mas nem sempre trazem resultados positivos em todas as áreas de cultivo (FERRAZ e
52 VALLE, 1997, ALMEIDA et al., 2011)

53 Devido a essas dificuldades relacionadas ao manejo de fitonematóides e fungos de
54 solo, a busca por métodos alternativos de controle, como aplicações de óleos essenciais de
55 plantas e produtos naturais, vem se tornando cada vez mais constante (FERRAZ e VALLE,
56 1997).

57 O uso de óleos vegetais é muito vantajoso, pois esses produtos naturais podem
58 conter compostos que os nematoides e fungos não conseguem inativar; são pouco ou nada
59 tóxicos; sofrem rápida biodegradação e possuem múltiplos modos de ação, o que amplia
60 seu espectro de ação ao mesmo tempo em que agem de maneira seletiva (FERRAZ e
61 FREITAS, 2000).

62 Objetivou-se nesse trabalho avaliar o efeito dos óleos essenciais de eucalipto
63 comercial (*Eucalyptus* sp.), eucalipto (*Eucalyptos grandis* Hill e *E. citriodora* Hook),
64 citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowit), capim limão (*Cymbopogon citratus* D. C.),
65 canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume), Alfavaca cravo (*Ocimum gratissimum* L.);

66 cravo-da-índia (*Szygium aromaticum* L.) e Alecrim (*Rosmarinos officinalis* L.) no controle
67 ‘in vitro’ de *F. solani* e *M enterolobii*.

68

69 **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

70

71 **2.1 A cultura da goiabeira**

72

73 A goiabeira é considerada uma planta rústica e pouco exigente quando comparada a
74 outras frutíferas (MANICA et al., 2000). As condições edafoclimáticas do país favorecem
75 a produção comercial de goiabas em todo o território nacional, o que torna o Brasil o
76 terceiro maior produtor no ranking mundial de produtividade perdendo apenas para Índia e
77 Paquistão (FAO-CCP, 2010).

78 Segundo dados do IBRAF (2012), a área de produção de goiaba no Brasil em 2009
79 foi de aproximadamente 15.000 ha, com produção anual de 316.363 toneladas de frutas. O
80 setor de exportação de frutas frescas neste mesmo ano movimentou US\$ 724 milhões
81 (CAVARARO et al., 2010; FRANCISCO, 2010).

82 As regiões de destaque na produção comercial de goiaba são os Estados de São
83 Paulo, Bahia, Minas Gerai, Pernambuco, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul e Paraná
84 (IBGE, 2010).

85 A produção de goiaba no Brasil é realizada em grande parte em pequenas
86 propriedades com dimensão de 3 a 5 ha e, na maioria das vezes, são utilizadas mão-de-obra
87 familiar. Desta forma, a cultura da goiabeira é considerada uma ótima alternativa de fonte
88 de renda para os produtores familiares (GOMES, 2007).

89

90 **2.2 *Fusarium solani***

91

92 O fungo *F. solani* na sua fase anamórfica pertence ao Reino Fungi, classe-forma
93 dos fungos Mitospóricos, ordem-forma Tuberculariales, gênero *Fusarium*, espécie *F.*
94 *solani* e, na sua forma teleomórfica, pertence ao Reino Fungi, filo Ascomycota, ordem
95 Hypocreales, família Nectriaceae, gênero *Haematonectria*, espécie *H. haematococca*, com
96 formação de micélio abundante e uniforme em meio de cultura batata-dextrose-ágar
97 (BDA).

98 Inicialmente, o crescimento micelial é de cor branca a salmão, tornando-se bege
99 com o passar do tempo. São produzidos macroconídios com 3 a 7 septos ligeiramente
100 curvados e com as pontas arredondadas ou ligeiramente afiladas. Os microconídios são
101 ovais e difíceis de serem observados (LESLIE e SUMMERELL, 2006; AMORIM et al.,
102 2011).

103 Em condições desfavoráveis ao seu desenvolvimento são produzidas estruturas de
104 resistência chamadas clamidósporos que são constituídos por uma única célula cujo
105 citoplasma encontra-se condensado, decorrente do acúmulo de reservas nutritivas, e
106 formados nas hifas de maneira intercalar ou terminal (MICHEREFF, et al., 2005).

107 O fungo *F. Solani* tem ampla distribuição geográfica e gama de hospedeiros,
108 algumas das quais são: *Abelmoschus esculentus* L. (quiabo), *Allium cepa* L. (cebola), *A.*
109 *sativum* L. (alho), *Anacardium occidentale* L. (caju), *Arachis hypogaea* L. (amendoim),
110 *Asparagus officinalis* L. (aspargo), *Beta vulgaris* L. (beterraba), *Capsicum annuum* L.
111 (pimenta), *Coffea arábica* L. (café), *Colocasia esculenta* L. (inhame), *Cucumis sativus* L.
112 (pepino), *Daucus carota* L. (cenoura), *Glycine max* L. (soja), *Gossypium hirsutum* L.
113 (algodão), *Hevea* sp. (seringueira), *Hibiscus sabdariffa* L. (vinagreira), *Hibiscus* sp.
114 (hibisco), *Solanum lycopersicon* L. (tomate), *Manihot esculenta* L. (mandioca), *Musa*
115 *paradisíaca* L. (banana), *Oryza sativa* L. (arroz), *Passiflora edulis Sims f. flavicarpa* Deg.
116 (maracujá), *Phaseolus vulgaris* L. (feijão comum), *P. lunatus* L. (feijão de corda), *Piper*
117 *nigrum* L. (pimenta-do-reino), *Pisum sativum* L. (ervilha), *Riccinus communis* L.
118 (mamona), *Solanum tuberosum* (batata), *Sorghum bicolor* (sorgo), *Triticum aestivum* L.
119 (trigo), *Urena lobata* L. (malva-roxa), *Vigna sinensis* L. (feijão), *Vitis vinífera* L. (uva),
120 *Zea mays* L. (milho) e *Psidium guajava* L. (goiaba) (MENDES et al., 1998;
121 RICHARDSON, 1999; ARRUDA et al., 2005; GUPTA et al., 2010).

122 Os sintomas típicos causados pela fusariose nas plantas podem inicialmente ser o
123 amarelecimento e enrolamento de folhas e ramos mais novos, seguidos de avermelhamento
124 e queda das folhas. Os frutos produzidos nos ramos atacados tem seu desenvolvimento
125 paralisado, sendo os sintomas mais avançados caracterizados pela murcha e desfolhamento
126 da planta (GUPTA et al., 2010).

127

128

129

130 **2.3 *Meloidogyne enterolobii***

131

132 Esse nematóide pertence ao Filo – Nematoda (DIESING, 1861), Classe – Sercenentea
133 (VON LINSTOW, 1905), família Heterodeidae (Filipjev e Scgurnmans Stekhoven, 1941) e
134 gênero *Meloidogyne* (Goeldi, 1892) (MOURA, 1989).

135 O *M. enterolobii* é uma espécie tropical ou subtropical, cuja ocorrência já foi
136 relatada no Brasil, Cuba, Porto Rico, Senegal, África do Sul, Cuba, Malásia, Martinica,
137 Porto Rico, Senegal, Trinidad Tobago, Venezuela e África ocidental (CAB International,
138 2001).

139 No Brasil, *M. enterolobii* foi relatado pela primeira vez nos municípios de Petrolina
140 (PE), Curaçá e Maniçoba (BA) causando danos severos em plantios comerciais de
141 goiabeira (CARNEIRO et al., 2001). Posteriormente, a presença do nematóide foi relatada
142 nos estados de Pernambuco, Bahia, Rio de Janeiro, Piauí, Rio Grande do Norte, Espírito
143 Santo, Mato Grosso do Sul, Paraná, Ceará, Maranhão e São Paulo (TORRES et al., 2005;
144 SILVA et al., 2006; LIMA et al., 2008; SILVA et al., 2008).

145 O *M. enterolobii* constitui um dos fatores limitante para o cultivo da goiabeira,
146 devido ao elevado número de ovos produzidos por fêmea (500 ovos), ampla distribuição
147 geográfica e gama de hospedeiro (GUIMARÃES et al., 2003).

148 Várias espécies botânicas, tanto de plantas cultivadas comercialmente como de
149 invasoras, já foram relatadas como hospedeiras do nematóide; são elas: caruru
150 (*Amaranthus retroflexus* L.), picão preto (*Bidens pilosa* L.), maria-pretinha (*Solanum*
151 *americanum* Mill.), falsa-serralha (*Emilia sonchifolia*), café (*Coffea arábica* L.), pimenta
152 (*Capsicum annuum*), pimentão (*Capsicum cordiforme* L.), algodão (*Gossypium* spp. L.),
153 beterraba (*Beta vulgaris* L.), salsinha (*Petroselinum crispum* Mill.), fumo (*Nicotiana tabacum*
154 L.), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), melão (*Cucumis melon* L.), tomate (*Solanum*
155 *lycopersicum* L.), berinjela (*Solanum melongena* L.), soja (*Glycine max* L.), melancia
156 (*Citrullus lanatus* L.), quiabo (*Abelmoschus esculentus* L.) (CARNEIRO et al., 2001;
157 CARNEIRO et al., 2006; GUIMARÃES et al., 2003; TORRES et al., 2007; BRITO et al.,
158 2008).

159 O sintoma típico causado *M. enterolobii* é a deformação das raízes devido ao
160 desenvolvimento de galhas que se distribuem por todo o sistema radicular e que,
161 consequentemente, acarretam diminuição das raízes responsáveis pela absorção de água e
162 nutrientes; essa formação de galhas é atribuída aos processos de hiperplasia e hipertrofia de

163 células e tecidos, como resultado da ação de substâncias secretadas pelas glândulas
164 esofageanas dos nematoides (CARNEIRO et al., 2001).

165 O *M. enterolobii* pode ser disseminado através de movimentação ativa e passiva. A
166 primeira é um processo lento e pouco significativo; por outro lado, a movimentação
167 passiva é muito importante, sendo o homem o principal veículo de disseminação devido à
168 circulação constante de maquinário, mão-de-obra e transporte de mudas contaminadas.
169 Outras formas de movimentação passiva que merecem destaque são as enxurradas e ventos
170 (TORRES et al., 2005).

171

172 **2.4 O declínio da goiabeira**

173

174 As alterações provocadas nos agroecossistemas pela expansão de áreas cultivadas
175 com goiabeira acabaram propiciando condições favoráveis ao surgimento de alguns
176 problemas fitossanitários, como o ataque de pragas e doenças (BARBOSA, 2001).

177 Atualmente, uma das principais causas de redução das áreas cultivadas com cultura
178 da goiaba é o declínio da goiabeira, doença complexa causada pela associação de *M.*
179 *enterolobii* e *F. solani* (GOMES et al 2011). Essa doença, até o momento, já foi
180 responsável pela erradicação de aproximadamente 5.000 ha de pomares de goiabeira em
181 âmbito nacional, o que resulta em perda econômica aos produtores em torno de US\$ 70
182 milhões de dólares (PEREIRA et al. 2009, GOMES et al., 2012).

183 Em estudo realizado por Gomes (2012) ficou comprovado que o declínio da
184 goiabeira não é causado apenas por *M. enterolobii*, sendo *F. solani*, o agente que realmente
185 define a extensão dos danos causados à planta.

186 Os sintomas observados são forte bronzeamento das folhas, seguido do
187 amarelecimento total da parte aérea, culminando assim com desfolhamento generalizado e
188 morte da planta, os frutos atingem sua maturidade fisiológica prematuramente, provocando
189 redução no de tamanho, ficando abaixo do padrão de comercialização (MOREIRA e
190 HENRIQUE NETO, 2001; GOMES, 2007).

191 Outras interações singelísticas entre fungos e nematoides também já foram
192 relatadas na literatura, a exemplo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Aik) Snyder
193 e Hansen e *Meloidogyne* spp., constituindo fator limitante à produtividade do quiabeiro
194 (SILVA e PEREIRA, 2008). Segundo os autores, danos mais expressivos à cultura
195 ocorreram quando os dois patógenos estavam simultaneamente presentes na área.

196 Moura et al. (2001), observaram aumento da severidade da murcha em tomate
197 quando *Fusarium* sp. encontrava-se na presença de *M. incognita*. Em outro estudo,
198 Palmateer et al., (2004) constataram que a necrose do hipocótilo de algodão causada pelos
199 fungos *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, *F. solani*, *R. solani* e *T. basicola* (Berk. e
200 Broome) foi mais severa na presença de *Rotylenchulus reniformis* Linford e Oliveira
201 (1940).

202 Após a penetração de *M. enterolobii*, começam a ocorrer modificações bioquímicas
203 e fisiológicas no sistema radicular e, a partir de então, provavelmente começam a ser
204 produzidas substâncias benéficas para a penetração e o desenvolvimento de *F. solani*
205 (KHAN et al., 1989; GOMES, 2012). Posteriormente, os sintomas do declínio da goiabeira
206 começam a surgir, são eles: clorose, necrose das bordas foliares, murcha e queda de folhas;
207 deficiência nutricional, presença de galhas radiculares, apodrecimento da raiz e, alguns
208 meses após a manifestação dos primeiros sintomas, a morte da planta (GOMES, 2007;
209 GOMES et al. 2008).

210 Áreas infestadas com o *M. enterolobii* e *F. solani* são consideradas um dos
211 principais problemas fitossanitários devido à redução da produtividade, além de
212 proporcionar a erradicação de pomares inteiros. De acordo com Pereira et al.(2009), a
213 estimativa de área infestada com *M. enterolobii* é de aproximadamente 5000 ha, o que já
214 provocou o desemprego de cerca de 3.703 trabalhadores rurais; além disso o prejuízo
215 econômico é de aproximadamente 112,7 milhões de reais e, caso não seja encontradas
216 alternativas para o controle, a goiabicultura continuará a sofrer fortes reduções nas áreas
217 cultivadas.

218 Varias tentativas de manejo do declínio da goiabeira têm sido pesquisadas, porém
219 sem resultados satisfatórios como, por exemplo, a utilização de nematicidas, plantas
220 resistentes, fungos nematófagos, entre outros (Carneiro et al., 2011; Burla et al., 2007).
221 Almeida et al. (2011), testou isolados de rizobactérias para o manejo do declínio e
222 observou que eles não foram capazes de reduzir a densidade de J2 de *M. enterolobii* no
223 solo.

224 Carneiro et al. (2011), avaliaram a adição dos fungos *Paecilomyces lilacinus* (Thom
225 Samson) o e *Pochonia chlamydosporia* (Zare e Gams) por um período de seis meses e
226 relataram que, embora o número de ovos de *M. enterolobii* tenha reduzido os sintomas nas
227 plantas não foi atenuado. Em outro estudo, Carneiro et al. (2004) não observaram a adesão
228 de endósporos de três isolados de *Pasteuria penetrans* Metchnikoff, 1888 à cutícula dos J2

229 de *M. enterolobii*, o que impossibilitou a tentativa de uso dessa bactéria para o biocontrole
230 do nematóide.

231 Trabalhos com o intuito de encontrar fontes de resistência à *M. enterolobii* também
232 têm sido desenvolvidos. Burla et al. (2007), por exemplo, avaliaram a reação a *M.*
233 *enterolobii* de vinte e seis acessos de goiabeira e um de araçá e encontraram que todos os
234 materiais eram suscetíveis.

235

236 **2.5 Utilizações de óleos essenciais no manejo de fitonematóides e fungos**

237

238 O manejo de fitonematóides não é tarefa fácil. O uso de produtos sintéticos,
239 amplamente difundido em áreas agrícolas em todo o mundo, tem se mostrado cada vez
240 mais desaconselhável por serem caros e altamente tóxicos (STOLF, 2006).

241 A rotação de culturas é uma das principais táticas de manejo de patógenos de solo,
242 porém nem sempre é exequível em todas as áreas agrícolas (DUTRA et al., 2003). O
243 emprego de variedades resistentes, caso seu uso seja contínuo, pode se tornar um
244 problema, pois podem surgir novas populações de organismos capazes de parasitar essas
245 plantas. Além disso, não há variedades comerciais resistentes a todas as espécies de
246 nematoides e fungos (CAMARGO e BERGAMIM FILHO, 1995).

247 Muitas plantas medicinais produzem compostos secundários que protegem outras
248 espécies botânicas contra o ataque de pragas e doenças tornando-se, desta forma, uma nova
249 alternativa para o manejo de fitonematóides devido, principalmente, à sua baixa toxicidade
250 (BASTOS e ALBURQUERQUE, 2004; LORENZETTI, 2009).

251 A pressão da sociedade por sustentabilidade ambiental tem estimulando a busca por
252 novos compostos bioativos para o manejo integrado de pragas e doenças (PIRES, 2008).
253 As plantas medicinais e aromáticas, devido aos seus princípios ativos antimicrobianos, têm
254 propiciado o manejo de doenças com a mesma eficiência que produtos sintéticos, porém
255 com a vantagem de não ser prejudicial ao meio ambiente e ao homem (COUTINHO et al.,
256 1999).

257 A atividade biológica dos óleos essenciais extraídos de várias plantas tais como,
258 pimenta, capim-limão, citronela, alfavaca, eucalipto, cravo e canela tem sido relatada no
259 manejo de diversas espécies fúngicas. Zaccaroni et al. (2009), por exemplo, avaliaram o
260 efeito fungitóxico do óleo essencial de *Piper hispidinervum* L. sobre os fitopatógenos *F.*
261 *oxysporum cubensis*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. in

262 Sorok.) e constataram que a concentração de 1.000 µg/mL inibiu totalmente o crescimento
 263 micelial de *F. oxysporum* (Schl.) e *C. gloeosporioides* (Penz.).

264 Algumas das mais importantes plantas com atividade antimicrobiana estão listadas
 265 na tabela 1.

266

267 **Tabela 1.** Plantas cujos óleos essenciais apresentam atividade biológica contra
 268 microrganismos patogênicos.

Planta	Constituintes isolados	Patogenos sensível	Referência
<i>Mentha</i> sp.	Canfora	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Souza et al., 2012
<i>Tagetes patula</i>	Piperitona	<i>Botrytis cinera</i> , <i>Penicillim digitatum</i>	Romagnoli et al., 2005
<i>Plectranthus amboinicus</i>	Timol	<i>Fusarium solani</i>	Cruz et al., 2012
<i>Aloysia triphylla</i>	Geranial	<i>Salmonella choleraesuis</i>	Sartoratto et al., 2004
<i>Ocimum basilicum</i>	Eugenol	<i>Candida albicans</i>	Sartoratto et al., 2004
<i>Origanum majorana</i>	4-terpineol	<i>Aspergillus parasiticus</i>	Freire et al., 2011
<i>Cinnamomum osmophloeum</i>	Z-cinamaldeído	<i>Fusarium oxysporum</i>	Lee et al., 2005
<i>Syzygium aromaticum</i>	Canfora	<i>Rhizoctonia solani</i>	
<i>Szygium aromaticum</i>	Eugenol	<i>Macrophomina phaseolina</i>	Costa et al., 2011
<i>Szygium aromaticum</i>	Eugenol	<i>Staphylococcus aureus</i>	Scherer et al., 2009
<i>Origanum vulgare</i>	Carvacrol	<i>Corynespora cassicola</i> e <i>C. gloeosporioides</i>	Romero et al., 2012
<i>Foeniculum vulgare</i>	Timol		
<i>Foeniculum vulgare</i>	Citral	<i>M. incognita</i> raça I	Echeverrigaray et al., 2010

269

270 Os óleos essenciais são constituídos de compostos orgânicos originados, na maioria
271 das vezes, da produção de metabólitos secundários de plantas, possuindo misturas
272 complexas de substâncias voláteis geralmente odoríferas e líquidas com cheiro intenso
273 (SARTORATTO et al., 2004, e OLIVEIRA et al., 2011). Os princípios ativos de plantas
274 medicinais são substâncias produzidas pelas plantas para sua proteção e sobrevivência
275 devido às modificações do meio ou ao ataque de microrganismos (WHITTAKER e
276 FEENY, 1971).

277 Os óleos essenciais possuem vários compostos, porém alguns constituintes
278 apresentam maior concentração em relação a outros e são chamados de componentes
279 majoritários; por outro lado, os outros que apresentam baixíssima concentração são
280 chamados de componentes traço (DORAN, 1991).

281 Para avaliar as propriedades biológicas dos óleos essenciais, deve-se considerar que
282 esses são misturas complexas de várias moléculas, assim, as atividades biológicas podem
283 ser atribuídas ao sinergismo entre todas as moléculas ou apenas um dos componentes
284 majoritários presentes no óleo. Geralmente, os principais componentes parecem ser
285 responsáveis pelas características biofísicas e biológicas dos óleos essenciais dos quais
286 foram isoladas (IPKE et al., 2005).

287 Compostos biologicamente ativos são aqueles que exercem ação sobre um
288 determinado ser vivo e os óleos essenciais são comercialmente explorados por produzir
289 terpenóides (que têm aplicações industriais como na fabricação de produtos para higiene
290 bucal), flavorizantes e aromatizantes utilizados em alimentos e bebidas, perfumaria,
291 confeitarias e produtos farmacêuticos (MAFFEI e MUCCIARELLI, 2003). Além desses
292 benefícios, os óleos não são tóxicos a humanos e apresenta propriedades antifúngica,
293 antiviral, antibacteriana, nematicida, larvicida e repelente de mosquitos (PATTNAIK et al.,
294 1996; PANDEY et al., 2000; DORNER e COLE, 2002; KRITZINGER et al., 2002;
295 SCHUHMACHER et al., 2003; DOMIJAN et al., 2005).

296 A extração dos óleos essenciais pode ser realizada com diferentes técnicas, e
297 depende da parte da planta a ser utilizada, quantidade e características desejadas para o
298 produto final. As técnicas mais usuais são: prensagem, hidrodestilação por arraste de vapor
299 d'água e extração com solventes voláteis (SEMEN e HIZIROGLU, 2005).

300 Vários óleos essenciais de plantas já foram testados quanto a sua atividade
301 biológica contra fungos fitopatogênicos e fitonematoides. Benini et al. (2010), por
302 exemplo, avaliou o efeito de óleo essencial de *O. gratissimum* nas alíquotas de 20, 40 e 60

303 μl e observam que todas as alíquotas promoveram inibição completa do desenvolvimento
304 de *Ralstonia solanacearum* Smith, *S. rolfsii* Sacc, *Phytophthora* sp. e *A. alternata* (Fr.:Fr.).

305 Santos et al. (2011), ao avaliar o efeito fungitóxico do óleo essencial de folhas de
306 *Piper marginatum* (Jacq.) sobre o crescimento 'in vitro' de *F. oxysporum* verificaram
307 efeito inibitório no crescimento micelial. Pereira et al. (2006), utilizando óleo essencial de
308 hortelã pimenta, observaram inibição do desenvolvimento micelial de *Aspergillus niger* e
309 *A. flavus* nas concentrações 1.500 e 2.000 mg/ml, respectivamente. Em *Fusarium* sp., o
310 desenvolvimento micelial foi afetado nas concentrações de 500 e 1.000 mg/ml.

311 Pandey et al. (2000), avaliaram a atividade de óleos essenciais de *Eucalyptus*
312 *citriodora* e *Ocimum basilicum* sobre *M. incognita* (Kofoid e White, 1919) e constataram
313 100% de mortalidade de J2 na aliquota de 250 μl , enquanto que para o óleo de
314 *Cymbopogon martinii* (Rox.) foi necessária uma aliquota de 1.000 μl para promover a
315 mesma taxa de mortalidade.

316 Em trabalho utilizando os óleos de alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham),
317 alfavaca (*Ocimum gratissimum*), capim citronela (*Cymbopogon winterianus*), capim santo
318 (*Cymbopogon citratus*), cidreira (*Lippia alba* Mill) e eucalipto (*Eucalyptus terenticornis*
319 Sm.), Moreira et al. (2009), observaram que a inibição da eclosão de J2 de *M. incognita*
320 raça 2 foi de 100% quando os ovos foram expostos ao óleo de *C. winterianus* na
321 concentração de 0,3125 ml/L, já para os óleos de *C.citratus* e *O. gratissimum* foram
322 necessárias 2,5 e 10 ml/L para produzir o mesmo efeito. Em relação à mortalidade de J2
323 todos os óleos testados foram eficientes, o que levou os autores a sugerir que nestes óleos
324 essenciais existe presença de compostos bioativos com efeito nematicida.

325 Os óleos essenciais podem interferir na atividade metabólica dos nematoides,
326 promovendo desorganização ou inibição das funções vitais desde início do
327 desenvolvimento embrionário até sua movimentação, o que pode ocorrer devido a
328 alterações da permeabilidade da membrana celular e desestruturação do sistema nervoso
329 (OKA et al., 2000 e SALGADO et al., 2003).

330 Garcia et al. (2011) obtiveram 100% de inibição do crescimento micelial do fungo
331 *Pyricularia grisea* (Cav.) causador da brusone do arroz, com a utilização de 30 μL do óleo
332 essencial de hortelã pimenta Em outro trabalho, Gonçalves et al. (2011) também avaliaram
333 a atividade biológica de óleo essencial de hortelã pimenta e notaram que na alíquota de 30
334 μL houve inibição de 100% do desenvolvimento de *Sclerotium rolfsii* (Sacc.) 'in vitro'.

335 Guimarães et al. (2011), avaliaram a atividade antioxidante e os efeitos
336 fungitóxicos do óleo essencial de capim-limão e do seu constituinte majoritário, o citral,
337 sobre o crescimento micelial de *F. oxysporum cubense* (Foc), *C. gloeosporioides*, *Bipolaris*
338 sp. e *Alternaria alternata*. Segundo os autores, todos os microrganismos tiveram o
339 crescimento micelial inibido pelo óleo essencial de capim-limão e pelo citral. Os menores
340 valores de CL₅₀ foram encontrados para o citral, na faixa de 2,9 a 70,9 µg/mL, para o óleo
341 essencial de *C.citratrus* a faixa observada de IC₅₀ foi de 75,8 a 162,1 µg/mL.

342 Objetivou-se, com o presente trabalho, determinar a composição química e avaliar os
343 efeitos tóxicos dos óleos essenciais de três espécies de eucalipto, canela, cravo-da-índia,
344 alfavaca cravo, citronela, capim limão e alecrim sobre três isolados de *F. solani* e *M.*
345 *enterolobii*.

346

347 **3. MATERIAL E MÉTODOS**

348

349 Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia do Núcleo de
350 Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário (NUDEMAFI) do
351 Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA/UFES),
352 Alegre, ES.

353 Na tabela 2, estão relacionadas as plantas das quais foram extraídos os óleos
354 essenciais a fim de averiguar seus efeitos sobre *M. enterolobii* e *Fusarium solani*. Essas
355 plantas foram cultivadas na área experimental do CCA-UFES e identificadas pela Prof^a.
356 Tatiana Tavares Carrijo do departamento de Biologia do CCA-UFES.

357

358

359

360

361

362

363

364

365

366

367 **Tabela 2** - Relação das espécies vegetais com suas denominações vulgar e científica e
368 parte da planta utilizada para extração dos óleos essenciais. Alegre, ES, 2012.

Nome Vulgar	Nome Científico	Parte da Planta
Alfavaca-Cravo	<i>Ocimum gratissimum</i>	Folha, inflorescência
Alecrim	<i>Rosmarinos officinalis</i>	Folha
Eucalipto comercial	<i>Eucalyptus</i> sp.	Folha
Eucalipto	<i>Eucalyptus citriodora</i>	Folha
Eucalipto	<i>Eucalyptus grandis</i>	Folha
Cravo-da-índia	<i>Syzygium aromaticum</i>	Folha
Canela	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Folha
Capim-limão	<i>Cymbopogon citratus</i>	Folha
Citronela	<i>Cymbopogon winterianus</i>	Folha

369

370 **3.1. Obtenção dos óleos essenciais**

371

372 Os óleos foram obtidos por hidrodestilação no laboratório de fitoquímicos do
373 NUDEMAFI de acordo com a metodologia de Castro et al. (2004).

374 Uma amostra de material vegetal fresco (100 g) foi transferida para balão de
375 destilação contendo água destilada (2 L). O balão foi acoplado ao aparelho do tipo
376 Clevenger e este ao condensador (Figura 1). A hidrodestilação foi mantida, por 3 horas,
377 após o início da ebulição da água. A fase orgânica foi recolhida por extração líquido-
378 líquido do hidrolato (500 mL) com pentano (5x30 mL). Nesta, foi vertida uma quantidade
379 em excesso de sulfato de sódio anidro para retirada de água da amostra, procedendo a sua
380 filtração. O filtrado foi levado ao aparelho rota evaporador para obtenção do óleo
381 essencial.



382

383 **Figura 1-** Aparelho Clevenger acoplado ao condensador para extração de óleos essenciais.

384 3.2. Caracterização química

385

386 As análises qualitativas e quantitativas dos óleos essenciais foram realizadas no
387 Departamento de Química e Física da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)
388 Alegre-ES.

389 A identificação dos componentes voláteis foi realizada por cromatografia gasosa
390 acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM) em equipamento com detector seletivo de
391 massa, modelo QP-PLUS-2010 (SHIMADZU) (Figura 2). A coluna cromatográfica
392 utilizada foi do tipo capilar de sílica fundida com fase estacionária Rtx-5MS, de 30 m de
393 comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, utilizando hélio como gás de arraste. As
394 temperaturas foram de 220°C no injetor e 300°C no detector. A temperatura inicial da
395 coluna foi de 60°C, sendo programada para ter acréscimos de 3°C a cada minuto, até atingir
396 a temperatura máxima de 240°C (CASTRO et al., 2004). A identificação dos compostos foi
397 obtida por comparações dos espectros de massas com os existentes na biblioteca NIST,
398 com a literatura e pelo índice de Kovat's (Adams, 1995).

399 A quantificação dos constituintes químicos do óleo essencial foi realizada por
400 cromatografia em fase gasosa em equipamento SHIMADZU GC-2010 Plus, equipado com
401 detector de ionização de chama (CG-DIC). O gás de arraste utilizado foi o nitrogênio e
402 coluna capilar Rtx-5MS, 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno. As
403 temperaturas do injetor e do detector foram fixadas em 240 e 250°C, respectivamente. A
404 programação de temperatura no forno foi a mesma utilizada nas análises por CG-EM. Uma
405 quantidade de 10 mg da amostra foi diluída em diclorometano (1 mL), sendo injetado 1 µL
406 da mistura Castro et al. (2004).

407



408

409 **Figura 2** – Cromatografo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas para identificação
410 dos óleos essenciais.

411

412 **3.3. Obtenção dos isolados de *Fusarium solani***

413

414 Os três isolados de *F. solani* foram obtidos de raízes de goiabeira com sintomas de
415 declínio e doados pelo Prof. Dr. Ricardo Moreira de Souza da Universidade Estadual Norte
416 Fluminense (UENF).

417

418 **3.4. Obtenção dos juvenis de segundo estágio (J2) de *M. enterolobii***

419

420 Para a obtenção dos J2, os ovos de uma população pura de *M. enterolobii*
421 multiplicada e mantida em raízes de goiabeira cv. Paluma, cultivada na área experimental
422 do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER),
423 Pacotuba, ES, foram mantidos em câmara de eclosão a 26°C por 24 horas. Decorrido esse
424 período, a suspensão aquosa contendo os J2 foi vertida em peneira de 0,025 mm de malha
425 (500 mesh) e transferida para uma proveta graduada com auxílio de piseta contendo água
426 de torneira (CHEN, 1988).

427

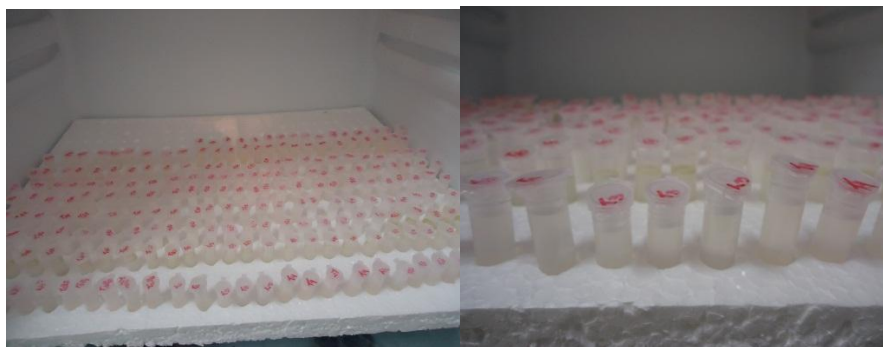
428 **3.5. Bioatividade dos óleos essenciais na inativação ou morte de J2 de *M. enterolobii***

429

430 Em tubos tipo eppendorf de 2 mL de capacidade (Figura 3) foram adicionados
431 alíquotas de 5, 10, 15, 20, 25 e 30 µl de óleo de cada uma das espécies botânicas + 2mL de
432 suspensão aquosa contendo 200 J2.

433 Os tubos foram incubados a 26°C e as avaliações feitas 24 horas após a montagem
434 do experimento, vertendo-se cuidadosamente o conteúdo de cada tubo sobre uma peneira
435 de 0,025 mm de malha. Os J2 recolhidos nessa peneira foram lavados com água corrente.

436 Posteriormente, os J2 foram novamente transferidos para os tubos contendo água de
437 torneira e deixados em repouso por mais 24 horas. Determinou-se então a porcentagem de
438 J2 móveis (vivos) e imóveis (inativos). Essa avaliação foi feita visualmente sob
439 microscópio estereoscópio, observando a movimentação dos J2 por 10 minutos.



440

441 **Figura 3-** Tubos tipo eppendorf contendo óleos essenciais e juvenis de segundo estágio
442 (J2) de *M. enterolobii*.

443

444 **3.6. Inibição da germinação de conídios de *F. solani***

445

446 Em tubos tipo eppendorf de 2 mL de capacidade foram adicionados as alíquotas de
447 5, 10, 15, 20 25 e 30µl de óleo de cada uma das espécies botânicas + 2mL de suspensão
448 aquosa contendo 2×10^4 conídios/mL do fungo obtidos a partir de colônias em crescimento
449 com esporulação em meio BDA, após 10 dias de incubação em estufa tipo BOD regulada a
450 temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

451 Como controle foi utilizada uma suspensão de conídios (2×10^4 conídios/mL) em
452 água destilada esterilizada. Após 12 h de incubação, foi quantificada a germinação dos
453 conídios. Foram considerados como germinados, os conídios com tubos germinativos com
454 comprimento igual ou superior à maior dimensão do esporo. O ensaio foi realizado com
455 cinco repetições por tratamento.

456

457 **3.7. Bioatividade dos óleos essenciais no crescimento micelial de *F. solani***

458

459 Para verificar o efeito dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial, alíquotas
460 de 5; 10; 15; 20; 25 e 30 µl dos óleos essenciais foram colocadas no centro de placas de
461 Petri (9 cm de diâmetro) contendo o meio BDA e distribuídas sobre a superfície do meio
462 de cultura com auxílio de alça de Drigalsky.

463 Em seguida, um disco de 1 cm de diâmetro do meio de cultura contendo micélio de
464 *F. solani* com 10 dias de incubação foi transferido para o centro das placas contendo uma
465 das alíquotas mencionadas anteriormente dos diferentes óleos essenciais. As placas foram
466 seladas com papel aderente, identificadas e incubadas em estufa tipo BOD sob fotoperíodo

467 de 12h à temperatura de 25 °C (Salgado et al., 2003). A avaliação do experimento teve
468 início 24h após sua instalação, realizando-se medições ortogonais do diâmetro das colônias
469 diariamente, sendo que cada medição correspondeu à média de duas medidas
470 diametralmente opostas da colônia fúngica, tendo como referência as placas testemunhas
471 (BALBI-PEÑA et al., 2006). O crescimento foi avaliado até que a testemunha completasse
472 todo o diâmetro da placa.

473 Para o cálculo da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC),
474 (BASTOS, 1997), aplicou-se a fórmula:

$$475 \quad \text{PIC} = \frac{\text{Cresc. testemunha} - \text{Cresc. tratamento}}{\text{Cresc. testemunha}} \times 100$$

476
477 Em que: Cresc. Testemunha significa o crescimento micelial de *F. solani* em placas
478 sem adição de óleos, e Cresc. tratamento o crescimento do micélio fúngico em placas nas
479 quais foram adicionados os tratamentos (óleos).

480

481 **3.8. Bioatividade dos óleos essenciais na esporulação de *F. solani***

482

483 Após a avaliação do crescimento micelial de *F. solani*, realizou-se a contagem de
484 esporos. Para isso, foi preparada uma suspensão de esporos, para cada tratamento, através
485 da adição de 10 mL de água destilada às placas de Petri.

486 Com o auxílio de uma alça de Drigalsky, realizou-se uma leve fricção da colônia
487 fúngica, de modo que fossem liberadas as estruturas reprodutivas do fungo do meio de
488 cultura. A suspensão obtida foi filtrada em copo tipo béquer, com auxílio de um funil de
489 vidro e camada de gaze, possibilitando a passagem da suspensão aquosa contendo os
490 esporos, mas restando os demais materiais, como as hifas. A suspensão foi homogeneizada
491 e em seguida, quantificada o número de conídios com o auxílio de uma câmara de
492 Neubauer (hemacitômetro).

493

494 **3.9. Delineamento experimental**

495

496 Para estudar o efeito dos óleos essenciais sobre *M. enterolobii*, utilizou-se
497 delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) num esquema fatorial 9 x 6 +
498 1, (nove óleos, seis alíquotas de cada óleo e uma testemunha adicional). Em relação ao
499 efeito dos óleos sobre *F. solani*, também utilizou-se o DIC em esquema fatorial 9 x 6 + 1

500 (nove óleos, seis alíquotas de cada óleo, três isolados fúngicos) e uma testemunha
501 adicional. Em todos os experimentos foram utilizadas 5 repetições.

502 Os dados foram submetidos à análise de variância e o efeito das diferentes alíquotas
503 no índice de crescimento micelial, na redução da esporulação e inibição da germinação de
504 esporos foram analisados por análise de regressão e pelo teste de Scott knott. Para o efeito
505 dos tratamentos sobre a eclosão e mortalidade de J2 os dados foram comparados pelo teste
506 de Scott knott. Todas as análises foram feitas com auxílio do programa estatístico R (R
507 DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011).

508

509 **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

510

511 **4.1. Composição química dos óleos essenciais**

512

513 Os constituintes químicos dos óleos essenciais obtidos das plantas de Eucalipto
514 (*Eucalyptus* sp., *E. citriodora* e *E. grandis*), Citronela (*Cymbopogon winterianus*), Capim
515 limão (*Cymbopogon citratus*), Alfavaca cravo (*Ocimum gratissimum*), Canela
516 (*Cinnamomum zeylanicum*), Cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum*) e Alecrim
517 (*Rosmarinos officinalis*), e os seus teores expressos em porcentagem (calculados por
518 normalização de áreas) encontram-se na Tabela 3.

519

520 **Tabela 3** - Constituintes dos óleos essenciais de nove espécies botânicas identificadas por
521 cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas e seus respectivos teores
522 expressos em normalização de área (%), Alegre, ES, 2012.

Espécies botânicas*	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Componentes									
α -pineno	0,80	26,30	-	-	4,1	-	-	-	-
β -pineno	0,18	-	-	-	2,3	-	-	-	-
p-cimeno	0,44	15,10	-	-	-	-	-	-	-
1,8-cineol	1,75	10,48	-	-	-	1,2	24,23	-	-
limoneno	-	3,28	-	-	-	-	-	-	-
γ -terpineno	0,27	6,74	-	-	-	-	-	-	-
Linalol	0,35	-	1,35	0,95	5,8	-	2,2	-	-

iso-isopulegol	10,20	0,74	-	-	-	-	-	-	-
citronelal	64,92	23,46	-	1,53	-	86,25	-	-	-
neo-isopulegol	0,58	1,21	-	0,67	-	-	-	-	-
α -terpineol	-	1,59	-	-	-	-	-	-	-
β -citronelol	8,25	2,45	-	-	-	-	-	-	-
acetato de α -terpenila	6,74	1,30	-	-	-	-	-	-	-
acetato de citronelila	3,21	-	-	5,72	-	-	-	-	-
6-Metil-5-hepten-2-ona	-	-	0,98	-	-	-	-	-	-
β -Mirceno	-	-	6,59	-	-	-	-	-	-
cis-Ocimeno	-	-	0,02	-	-	-	-	-	-
trans-Verbenol	-	-	0,48	-	-	-	-	-	-
Neral	-	-	37,78	17,10	-	-	-	-	-
geraniol	-	-	2,47	0,49	-	-	-	-	-
geranial	-	-	49,98	28,62	-	-	-	-	-
2-Undecanono	-	-	0,35	-	-	-	-	-	-
citronellol	-	-	-	23,62	-	-	-	-	-
terpinen-4-ol acetate	-	-	-	0,63	-	-	-	-	-
eugenol	-	-	-	0,15	57	-	-	53,25	84,12
geranyl Acetate	-	-	-	1,69	-	-	-	-	-
β -Elemene	-	-	-	0,53	-	-	-	-	-
germacrene-D	-	-	-	0,83	-	-	-	-	-
delta-Cadinene	-	-	-	1,25	-	-	-	-	-
elemol	-	-	-	5,27	-	-	-	-	-
β -Eudesmol	-	-	-	0,52	-	-	-	-	-
torreol	-	-	-	1,44	-	-	-	-	-
α -Cadinol	-	-	-	2,96	-	-	-	-	-
α -mirceno	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-
limoneno	-	-	-	-	3,1	-	-	-	-
para-cimeno	-	-	-	-	2,2	-	-	-	-
α -terpineno	-	-	-	-	0,3	-	-	0,30	-
α -felandreno	-	-	-	-	3,8	-	-	-	-
β -cariofileno	-	-	-	-	8,6	-	-	-	-

α -humuleno	-	-	-	-	2,1	-	-	-	1,76
3-neotujamol	-	-	-	-	-	5,3	-	-	-
formato de citronelila	-	-	-	-	-	6,4	-	-	-
β -mirceno	-	-	-	-	-	-	23,0	-	-
α -pineno	-	-	-	-	-	-	17,9	-	-
5-metil-3-heptanona	-	-	-	-	-	-	2,3	-	-
canfeno	-	-	-	-	-	-	2,5	-	-
cânfora	-	-	-	-	-	-	5,64	-	-
α -terpineol	-	-	-	-	-	-	3,6	-	-
verbenona	-	-	-	-	-	-	8,3	-	-
β -cariofileno	-	-	-	-	-	-	3,2	2,84	10,45
p-cimeno	-	-	-	-	-	-	-	2,11	-
mirceno	-	-	-	-	-	-	-	0,34	-
gama-terpineno	-	-	-	-	-	-	-	3,08	-
timol	-	-	-	-	-	-	-	11,40	-
germacreno-D	-	-	-	-	-	-	-	0,80	-
α -bisaboleno	-	-	-	-	-	-	-	18,05	-
óxido de cariofileno	-	-	-	-	-	-	-	0,65	0,6
cis-guaieno	-	-	-	-	-	-	-	0,48	-
acetato de eugenila	-	-	-	-	-	-	-	-	2,13
oxido de cariofileno	-	-	-	-	-	-	-	-	-

523

524 *1. *Eucalyptus citriodora* (eucalipto), 2. *E. grandis* (eucalipto); 3. *Cymbopogon citratus* (capim-limão); 4.
525 *Cymbopogon winterianus* (citronela); 5. *Cinnamomum zeylanicum* (Canela); 6. *Eucalyptus* sp.; 7.
526 *Rosmarinos officinalis* (alecrim); 8. *Ocimum gratissimum* (alfavaca-cravo); 9. *Syzygium aromaticum* (cravo-
527 da-india).

528

529 Apesar de os óleos essenciais possuírem quantidade variável de substâncias, é
530 comum sempre ocorrer o predomínio de um ou dois compostos em maior quantidade e
531 outros em menores quantidades. A atividade antifúngica e nematicida destes óleos
532 essenciais pode estar associada à presença de um destes compostos ou da ação sinérgica de
533 dois ou mais compostos presentes (SILVA; BASTOS, 2007).

534 O principal constituinte do óleo essencial de *E. grandis* foi o α -pineno (26,3%),
535 seguido do citronelal (23,46%). Para o óleo de *E. citriodora* o principal composto

536 encontrado foi o citronelal com 64,92% do total, seguido do iso-isopulegol (10,20%) e o β -
537 citronelol (8,25%) Para o *Eucalyptus* sp. o composto principal foi o citronelal (86,25%) e
538 o formato de citronelila (6,4%) (Tabela 3).

539 Estanislauet al. (2001) relataram que para as espécies de *E. citriodora* e *E. grandis*
540 os componentes principais foram o citronelal (82,33%), acetato de citronelila (7,8%) e 3
541 neotujamol (6,78%); para o *E. grandis* foram encontrados os compostos terpineno
542 (16,84%), p-cimeno (16,66%), o que demonstra que os componentes do óleo uma mesma
543 espécie botânica podem ter percentuais diferentes, dependendo das condições de cultivo,
544 ambientais, entre outras.

545 Chagas et al. (2002) descreveu como componente majoritário para o *E. citriodora* o
546 citronelal (94,9%), acetato de citronelila (2,61%) e trans-cariofileno (2,49%). No presente
547 estudo, o principal componente do óleo dessa planta foi o citronelal.

548 Nove compostos foram identificados no óleo essencial de *C. citratus*, sendo o
549 componente majoritário o geranial (49,98%), seguido pelo neral (37,78%) (Tabela 3).
550 Pereira et al. (2008) identificaram e quantificaram neste óleo os compostos neral (40,2%) e
551 geranial (31,8%).

552 De acordo com Leal et al. (2003) e Guimarães (2007), o óleo essencial de *C.*
553 *citratus* possui citral (mistura dos isômeros neral e geranial) como principal composto (em
554 torno de 65 a 80%). Cimanga et al. (2002) e Costa et al. (2005) também observaram a
555 presença do citral como constituinte majoritário no óleo essencial de *C. citratus*, o que
556 corrobora com os resultados do presente estudo. Além disso, outros autores afirmaram que
557 o citronelal, geraniol, terpenos como o mirceno, vários aldeídos como isovaleraldeído,
558 cetonas, álcoois como o nerol, o 6-metil-5-hepten-2-ona, o linalol e o 2-undecanona podem
559 ser encontrados neste óleo (COSTA et al. 2005; GUIMARÃES, 2007).

560 A composição química do óleo de *S. aromaticum* apresentou como componente
561 majoritário o eugenol (84,12%), seguido pelo β -Cariofileno (10,45%). Outros compostos
562 foram detectados em quantidades diminutas (Tabela 3). Os resultados encontrados foram
563 similares aos de outros pesquisadores, como Snoussi et al. (2008), que encontraram 88%
564 de eugenol em óleo de *S. aromaticum*. Pereira et al. (2008) também encontraram como
565 constituinte majoritário desse óleo o eugenol (86,3%), seguido do trans-cariofileno (8,2%),
566 α -humuleno (0,8%) e acetato de eugenila (3,6%). No presente trabalho, o acetato de
567 eugulina e o α -humuleno tiveram percentuais de 2,13 e 1,76%, respectivamente.

568 Em outro trabalho, Oussalah et al. (2006), também encontraram que os principais
569 componentes do *S. aromaticum* são: eugenol (78%) e acetato de eugenila (8%),
570 confirmando parcialmente o resultado encontrado no presente trabalho.

571 Outro estudo que corrobora os resultados da presente pesquisa é o de Schereret al.
572 (2009), no qual o óleo essencial de *S. aromaticum* apresentou como componentes
573 majoritários o eugenol (83,75%), seguido pelo α -cariofileno (10,98%) e o α -humuleno
574 (1,26%). Já Costa et al. (2011), encontraram como constituintes majoritários os compostos
575 eugenol (83,6%); acetato de eugenila (11,6%) e cariofileno (4,2%).

576 Os principais componentes encontrados no óleo de *C. winterianus* foram o geraniol
577 (28,62%), citronellol (23,62%) e neral (17,10%), (Tabela 3) sendo esses compostos
578 classificados como monoterpenos. A presença dos compostos citronelal e citronellol no
579 óleo desta planta foi relatado por Labinas e Crocomo (2002). Quintans-Júnior et al. (2008),
580 encontraram a presença de geraniol (40,06%), como o principal constituinte, seguindo
581 pelos compostos citronelal (27,44%) e citronellol (10,45%).

582 Leite et al. (2011) encontraram como componentes majoritários do óleo essencial
583 de *C. winterianus* o citronelal (36,19%), geraniol (32,82%) e citronellol (11,37%). Já
584 Oliveira et al. (2010) relataram que o óleo essencial de *C. winterianus* apresentou como
585 componentes majoritários o citronelal (34,60%), geraniol (23,17%) e citronelol (12,09%).
586 Segundo Chen e Vijoen, (2010), o geraniol tem atividade anti-séptica, inibindo o
587 crescimento de fungos e de bactérias (CHEN e VIJOEN, 2010).

588 O óleo de *O. gratissimum* apresentou como componentes majoritários o eugenol
589 (53,25%), seguido pelo alfa-bisaboleno (18,05%) e timol (11,40). Lorenzi (2002)
590 encontrou no óleo essencial extraído das folhas de *O. gratissimum* 73,3% de eugenol,
591 12,1% de 1,8 cineol, 2,3% de β -cariofileno, 2,1% de (Z)-ocimeno. Já no trabalho de Silva et
592 al. (2010), foram identificadas para essa espécie os compostos eugenol (81,94%) e γ -
593 muroleno (12,58%), confirmando parcialmente o resultado encontrado no presente
594 trabalho.

595 Na composição química do óleo de *C. zeylanicum* foi encontrado como componente
596 majoritário o eugenol (57%), seguido de β -cariofileno (8,6%) e linalol (5,8%), sendo ainda
597 identificados mais 8 compostos (Tabela 3). Resultados diferentes foram relatados por
598 Andrade et al. (2012), ao descrever que os componentes majoritários do óleo de *C.*
599 *zeylanicum* são os fenilpropanóides (E)- cinamaldeído (77,72%) e acetato de (E)-cinamila
600 (5,99%) e o monoterpenóide 1,8-cineol (4,66%). Os relatos de Singh et al. (2007) também

601 diferem dos do presente estudo; os autores encontraram a presença de 13 componentes no
602 óleo essencial de *C. zeylanicum*, sendo o (E)-cinamaldeído (97,7%) o principal
603 componente químico, seguido do α -cadineno (0,9%), α -copaeno e (0,8%) e α -amorfenol
604 (0,5%).

605 Em relação ao óleo de *R. officinalis* os seus principais componentes foram o 1,8
606 cineol (24,23%), β -mirceno (23,0%), α -pineno (17,9%) e verbenona (8,3%). Jianget al.
607 (2011) analisando o óleo essencial de *R. officinalis* encontraram como compostos
608 majoritários o 1,8-cineol (26,54%), α -pineno (20,14%), cânfora (12,88%) e canfeno
609 (11,38%).

610 No que se refere aos componentes majoritários do óleo de *R. officinalis*, resultados
611 diferentes foram encontrados por outros autores. Okohet al. (2010) descreveram como
612 principais compostos isolados desse óleo a verbenona (17,43%), cânfora (16,57%), 1,8-
613 cineol (11,91%) e α -pineno (11,47%). Segundo Bozin et al. (2007) os constituintes
614 majoritários foram o limoneno (21,7%), seguido pelos compostos cânfora (21,6%) e α -
615 pineno (13,5%). Gachkaret al. (2007) relataram que os compostos encontrados em maior
616 quantidade na mesma planta foram o piperitona (23,7%), linalol (14,9%) e α -pineno
617 (14,9%). Já Bouchra et al. (2003) mencionaram a predominância dos compostos borneol
618 (15,6%), α -pineno (15,3%), limoneno (11,6%) e cânfora (11,6%).

619 O rendimento, a quantidade e a composição química dos óleos essenciais são
620 afetados por diversos fatores, incluindo a espécie botânica, devido á diversidade genética,
621 assim como as partes utilizadas e metodologia empregada no processo de extração,
622 fisiologia inerentes à planta (fase de desenvolvimento, ciclo de polinização, variações
623 sazonais, condições de estresse da planta), condições ambientais tais como clima, poluição
624 atmosférica, características do solo, luminosidade, temperatura, pluviosidade, nutrição,
625 época e horário de coleta, variações geográficas, interações entre planta/planta,
626 planta/microrganismos, plantas/insetos (GOBBO-NETO e LOPES, 2007; MORAIS, 2009,
627 AZAMBUJA, 2011). Isso explica as diferenças encontradas nos percentuais de óleo
628 encontrados para as diferentes espécies botânicas no presente estudo em comparação aos
629 resultados de outros autores citados na literatura.

630

631

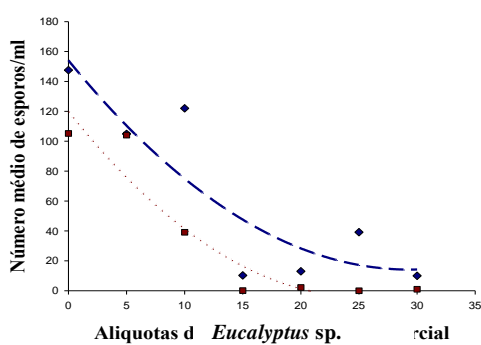
632

633 **4.2. Efeito fungitóxico dos óleos essenciais**

634

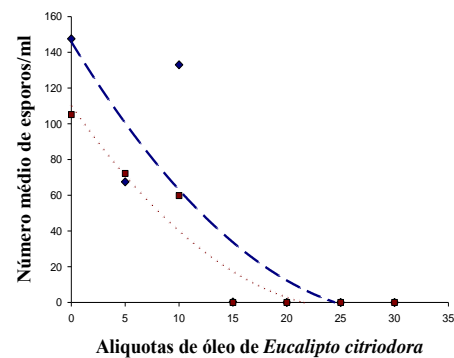
635 Observando-se as figuras 4, 5 e 6, percebe-se que houve redução do crescimento
 636 micelial, do número médio de esporos, aumento da porcentagem de inibição da germinação
 637 de esporos dos isolados de *Fusarium solani* UENF/CF 163, UENF/CF241 e UENF/CF 295
 638 em função das aliquotas crescentes dos óleos estudado, comportamento melhor ajustado
 639 pelo modelo quadrático de regressão.

640

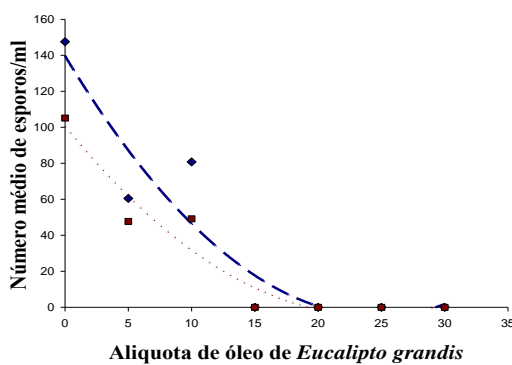


641

--- $\hat{Y}_{163} = 198,91 - 13,23x + 0,23x^2$ $R^2 = 0,8017$
 $\hat{Y}_{241} = 172,99 - 16,03x + 0,35x^2$ $R^2 = 0,9636$

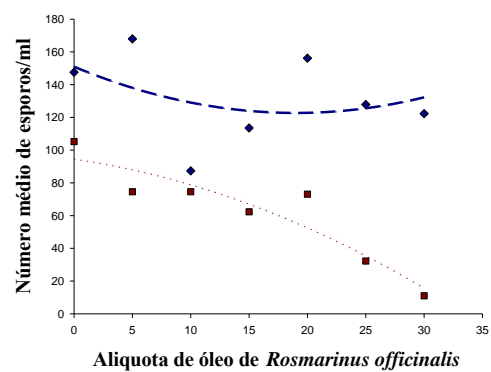


--- $\hat{Y}_{163} = 174,78 - 13,13x + 0,24x^2$ $R^2 = 0,7395$
 $\hat{Y}_{241} = 165,28 - 14,64x + 0,3x^2$ $R^2 = 0,9556$



642

--- $\hat{Y}_{163} = 115,36 - 8,91x + 0,16x^2$ $R^2 = 0,9636$
 $\hat{Y}_{241} = 77,25 - 0,6,16x + 0,11x^2$ $R^2 = 0,8021$



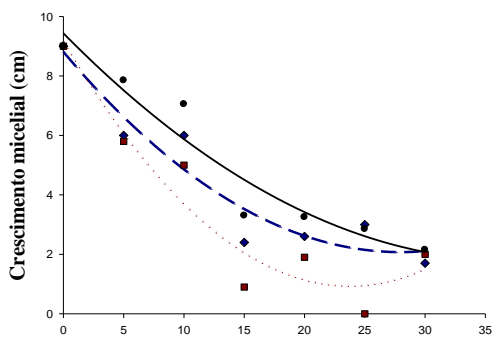
643

--- $\hat{Y}_{163} = 191,68 - 0,39x + 0,15x^2$ $R^2 = 0,3719$
 $\hat{Y}_{241} = 93,11 - 0,39x + 0,098x^2$ $R^2 = 0,8951$

644 **Figura 4** – Número médio de esporos de isolados de *Fusarium solani* (isolados UENF/CF
 645 163, UENF/CF241 e UENF/CF 295) submetidos a diferentes aliquotas (0, 5, 10, 15, 20,
 646 25, 30 µl) dos óleos essenciais de *Eucalyptus* sp., *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus gran-*
 647 *dis*, *Rosmarinus officinales*. Alegre, ES, 2012.

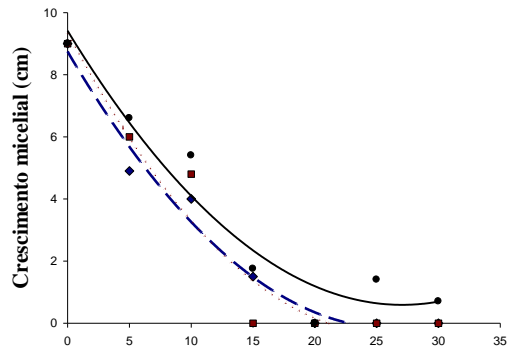
648

649



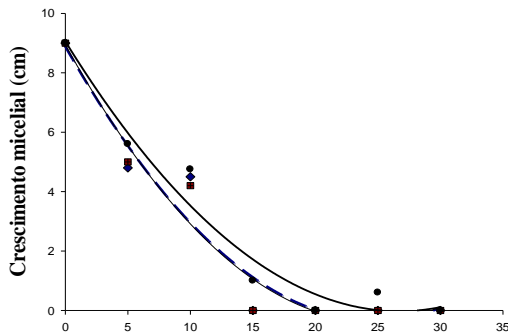
Aliquotas de óleo de *Eucalyptus* sp.

$\bar{Y}_{163} = 8,51 - 0,41x + 0,006x^2 \quad R^2 = 0,8841$
 $\bar{Y}_{241} = 9,38 - 0,66x + 0,014x^2 \quad R^2 = 0,8246$
 $\bar{Y}_{295} = 11,31 - 0,78x + 0,016x^2 \quad R^2 = 0,9167$



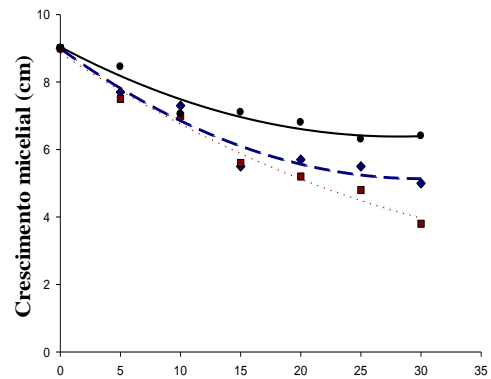
Aliquotas de óleo de *Eucalyptus citriodora*

$\bar{Y}_{163} = 8,62 - 0,7x + 0,014x^2 \quad R^2 = 0,9033$
 $\bar{Y}_{241} = 9,78 - 0,78x + 0,015x^2 \quad R^2 = 0,9057$
 $\bar{Y}_{295} = 10,42 - 0,75x + 0,014x^2 \quad R^2 = 0,9167$



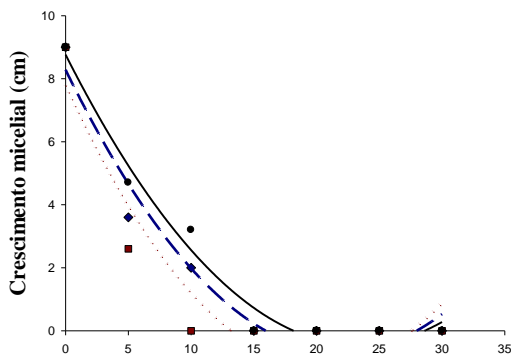
Aliquotas de óleo de *Eucalyptus grandis*

$\bar{Y}_{163} = 7,59 - 0,61x + 0,011x^2 \quad R^2 = 0,8193$
 $\bar{Y}_{241} = 8,55 - 0,71x + 0,014x^2 \quad R^2 = 0,8882$
 $\bar{Y}_{295} = 6,79 - 0,61x + 0,013x^2 \quad R^2 = 0,7089$



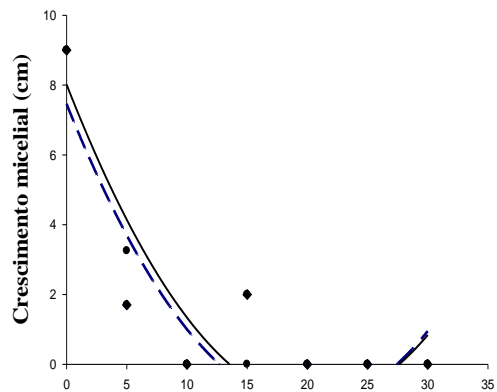
Aliquota do óleo de *Rosmarinus officinales*

$\bar{Y}_{163} = 9,33 - 0,33x + 0,006x^2 \quad R^2 = 0,8993$
 $\bar{Y}_{241} = 8,63 - 0,21x + 0,002x^2 \quad R^2 = 0,9731$
 $\bar{Y}_{295} = 9,45 - 0,23x + 0,0042x^2 \quad R^2 = 0,9167$



Aliquotas de óleo de *Cymbopogon winterianus*

$\bar{Y}_{163} = 6,31 - 0,55x + 0,11x^2 \quad R^2 = 0,9488$
 $\bar{Y}_{241} = 2,73 - 0,27x + 0,006x^2 \quad R^2 = 0,7857$
 $\bar{Y}_{295} = 8,55 - 0,68x + 0,01x^2 \quad R^2 = 0,8138$



Aliquota de óleo de *Cymbopogon citratus*

$\bar{Y}_{163} = 3,33 - 0,33x + 0,007x^2 \quad R^2 = 0,8451$
 $\bar{Y}_{241} = 1,38 - 0,14x + 0,003x^2 \quad R^2 = 0,7857$
 $\bar{Y}_{295} = 5,76 - 0,49x + 0,01x^2 \quad R^2 = 0,9167$

650

651

652

653

654

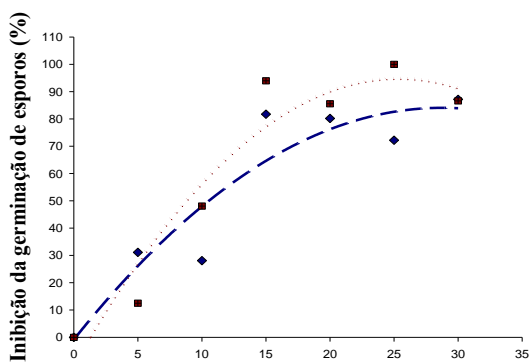
655

656

657

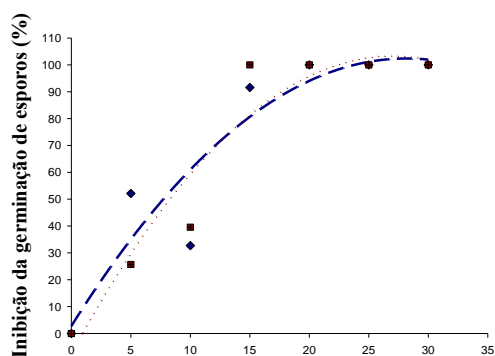
658

Figura 5 - Crescimento micelial (cm) de três isolados de *Fusarium solani* (isolados UENF/CF 163, UENF/CF241 e UENF/CF 295) submetidos a diferentes alíquotas (0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 μl) dos óleos essenciais de *Eucalyptus* sp., *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus grandis*, *Rosmarinus officinales*, *Cymbopogon winterianus* e *Cymbopogon citratus*. Alegre, ES, 2012.



Aliquotas de óleo de *Eucalyptus* sp.

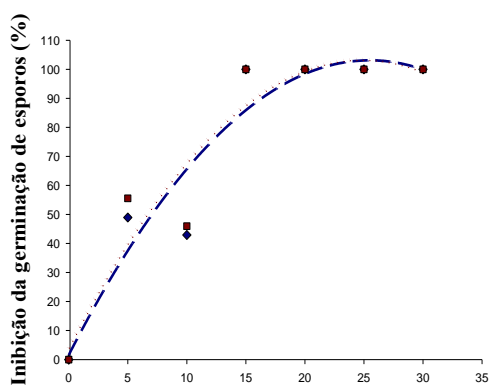
— $\bar{Y}_{163} = -4,8 + 5,97x - 0,1x^2$ $R^2 = 0,7990$
 $\bar{Y}_{241} = -27,8 + 10,34x - 0,22x^2$ $R^2 = 0,9207$



Aliquotas de óleo de *Eucalypto citriodora*

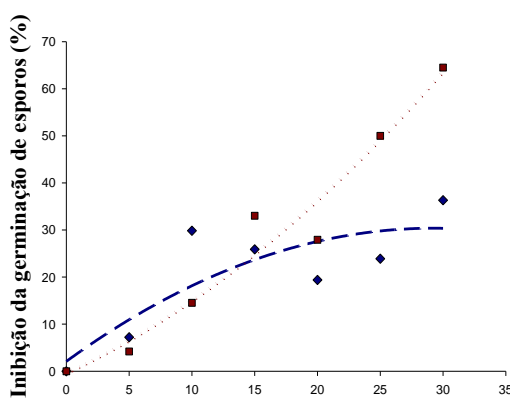
— $\bar{Y}_{163} = 174,78 - 13,13x + 0,24x^2$ $R^2 = 0,7395$
 $\bar{Y}_{241} = 165,28 - 14,64x + 0,3x^2$ $R^2 = 0,9556$

659



Aliquotas de óleo de *Eucalypto grandis*

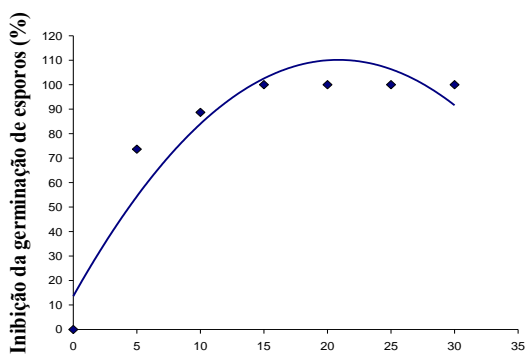
— $\bar{Y}_{163} = 26,27 + 5,69x - 0,10x^2$ $R^2 = 0,7483$
 $\bar{Y}_{241} = 6,27 + 7,716x - 0,15x^2$ $R^2 = 0,8562$



Aliquotas de óleo de *Rosmarinus officinalis*

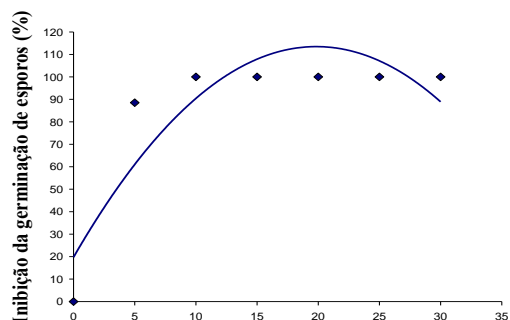
— $\bar{Y}_{163} = -17,15 + 8,16x - 0,22x^2$ $R^2 = 0,3388$
 $\bar{Y}_{241} = -0,48 + 1,51x + 0,0228x^2$ $R^2 = 0,9541$

660



Aliquotas de óleo de *Cymbopogon winterianus*

— $\bar{Y}_{163} = 59,55 + 3,54x - 0,074x^2$ $R^2 = 0,9447$



Aliquotas de óleo de *Ocimum gratissimum*

— $\bar{Y}_{163} = 67,38 + 3,33x - 0,077x^2$ $R^2 = 0,7857$

661

662

663 **Figura 6** – Porcentagem de inibição da germinação de esporos (%) de isolados de
 664 *Fusarium solani* (isolados UENF/CF 163, UENF/CF241 e UENF/CF 295) submetidos a
 665 diferentes alíquotas (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 μl) dos óleos essenciais de *Eucalyptus* sp.,
 666 *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus grandis*, *Rosmarinus officinales*, *Cymbopogon*
 667 *winterianus* e *Ocimum gratissimum*. Alegre, ES, 2012.

668

669 Com a aplicação das diferentes alíquotas dos óleos essenciais de *S. aromaticum* e
670 *C. zeylanicum*, o crescimento micelial de *F. solani* isolado UENF/CF 163 foi totalmente
671 inibido mesmo na menor alíquota (5 µl), não havendo diferença entre as concentrações
672 utilizadas para ambos os óleos.

673 A propriedade antifúngica dos óleos de *S. aromaticum* e *C. zeylanicum* é atribuída,
674 principalmente, aos componentes majoritários desses óleos. A redução no crescimento
675 fúngico pode ser associada a presença de substâncias encontradas nos óleos, como as do
676 grupo alcoólico, carbonilas e duplas ligações; pressupõe-se haver uma oxidação dos
677 constituintes celulares que são metabolizados em outras substâncias (SALGADO et al.,
678 2001).

679 Pinto et al. (2010), ao testarem três alíquotas do óleo essencial de *S. aromaticum*
680 (25 µl, 50 µl e 75 µl), quanto a toxicidade ao fungo *Colletotrichum gloeosporioides* isolado
681 da manga, verificaram inibição de 100% do desenvolvimento do fungo em todas as
682 alíquotas; no presente estudo, todas as alíquotas do óleo de *S. aromaticum* inibiram o
683 crescimento micelial de *F. solani*

684 A segunda menor alíquota testada do óleo de *O. gratissimum* parasilou totalmente
685 crescimento fungico (Tabela 4), indicando o efeito fungitóxico deste óleo

686 Numpaqueet al. (2011), ao investigar a atividade antifúngica dos componentes
687 timol e carvacrol presentes no óleo de *O. gratissimum* sobre os fungos *Colletotrichum*
688 *acutatum* e *Botryodiplodia theobromae*, observaram que na concentração de 50 µl/mL os
689 fungos não se desenvolviam mais; essa atividade, segundo os autores, foi atribuída ao
690 envolvimento do grupo hidroxila, na formação das ligações de hidrogênio em organelas na
691 célula e a acidez dos compostos fenólicos que promoveu redução do pH e colapso da força
692 motriz de prótons, causando o esgotamento de ATP na célula, levando os fungos a morte.

693 Embora a atividade biológica de óleos essenciais geralmente seja atribuída ao
694 seu(s) composto(s) majoritário(s), o efeito sinérgico ou antagônico de um composto em
695 menor concentração na composição desse óleo deve ser considerado, pois cada
696 componente pode ter sua parcela de contribuição para a atividade biológica desses óleos
697 (DAFERERA et al., 2003). $\hat{Y}_{16} = 6,31 - 0,55x + 0,11x^2 \quad R^2 = 0,9488$

698 Com a aplicação das crescentes alíquotas dos óleos essenciais de eucalipto
699 comercial, *E. citriodora*, *E. grandis*, *R. officinalis*, *C. winterianus* e *C. citratus* o
700 crescimento micelial dos três isolados de *F. solani* foi reduzido, o que demonstra que os

701 isolados fúngicos são sensíveis à tais óleos (Figura 5). O óleo dessas duas últimas espécies
702 botânicas foram os mais eficientes, pois as menores alíquotas (15 e 20 µl) já foram capazes
703 de inibir completamente o crescimento micelial. O óleo de *R. officinales* foi o menos
704 eficiente, pois mesmo a maior alíquota (20 µl) reduziu menos o crescimento micelial em
705 relação aos demais óleos (Figura 5).

706 Salgado et al. (2003) também notaram efeitos fungistáticos na concentração de
707 500mg/kg do óleo de *Eucalyptus* sp. no crescimento micelial dos fungos *F. oxysporum*,
708 *Bipolaris sorokiniana* e *Botrytis cinerea*.

709 Segundo Al-Reza et al. (2010), os óleos essenciais são promissores como agentes
710 antifúngicos, isso ocorre devido a presença de vários compostos ativos que podem agir de
711 diferentes formas na inibição do crescimento de fitopatógenos.

712 Carnelossi et al. (2009), analisando o efeito 'in vitro' de óleos essenciais de *E.*
713 *citriodora*, e menta (*Mentha piperita* L.) sobre o fungo *C. gloeosporioides*, observaram
714 que os óleos promoveram inibição total do crescimento micelial do patógeno. Pereira et al.
715 (2011), também observaram diminuição do crescimento micelial de *Cercospora coffeicola*
716 quando tratado com óleo essencial do *C. citratus* e *E. citriodora*. Em outro estudo,
717 Nguetack et al. (2004), analisando diferentes concentrações do óleo essencial de *C.*
718 *citratus* observaram a inibição no crescimento micelial de três fungos diferentes, a
719 concentração de 200 µg/mL inibiu em 64% do desenvolvimento de *F. moniliforme*, já
720 concentração de 550 µg/mL inibiu os fungos *Aspergillus flavus* e *A. fumigatus* em 48% e
721 77%, respectivamente. A inibição total foi constatada para *F. moniliforme* quando o óleo
722 foi utilizado na concentração de 300 µg/mL e para *A. flavus* e para *A. fumigatus* na
723 concentração de 1200 µg/mL.

724 Schuck et al. (2001) avaliaram a atividade antimicrobiana de *C. citratus* frente à
725 *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*. Com os resultados obtidos
726 ficou comprovada a atividade antifúngica sobre *C. albicans*, superando os valores de
727 inibição do antifúngico padrão. Guimarães et al. (2007), estudaram o efeito do óleo
728 essencial de *C. citratus* e de seus componentes majoritários (cital e mirceno) sobre *C.*
729 *gloeosporioides* e observaram que a alíquota de 500 ppm do óleo essencial e do citral
730 promoveram inibição de 100% o desenvolvimento fúngico, entretanto, observou-se que o
731 mirceno apresentou baixa atividade a 500 ppm, pois nessa concentração houve inibição de
732 apenas 22,17% do crescimento micelial do fungo.

733 A propriedade antifúngica do *C. citratus* é atribuída, principalmente, aos
734 componentes majoritários do óleo dessa planta. Guimarães et al. (2011), avaliou a
735 atividade fungitóxica do óleo essencial de *C. citratus* e do seu constituinte majoritário, o
736 citral, sobre o crescimento micelial de *F. oxysporum cubense*, *C. gloeosporioides*,
737 *Bipolaris* sp. e *A. alternata*, e observaram que todos os microrganismos tratados com o
738 óleo tiveram seu crescimento micelial inibido tanto pelo óleo essencial quanto pelo citral.

739 Alzate et et al. (2009), ao analisarem o efeito fungitóxico dos compostos
740 majoritários deste óleo revelaram que o citral na concentração de 300 µL/L inibiu
741 completamente o crescimento micelial de *Colletotrichum acutatum*.

742 À medida que a alíquota do óleo essencial de eucalipto comercial foi aumentada,
743 maior toxicidade aos isolados do *F. solani* foi notada, sendo a alíquota de 30 µl a que
744 promoveu maior redução do cresciment do fungo (Figura 5).

745 Costa et al. (2003), avaliaram os óleos essenciais de orégano, alecrim, manjeriçãõ,
746 menta e cebola (*Allium cepa* L.) sobre os fungos *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. ochraceus*
747 e *Fusarium* sp., e observaram que, na presença desses óleos, os fungos tiveram o
748 crescimento reduzido a medida que se aumentou a concentração dos óleos. Martins et al.
749 (2010), observaram que o óleo de *R. officinalis* na concentração mínima (4%) foi ativo
750 sobre dois isolados de *R. Solanacearum*, com valores médios dos halos de inibição entre 12
751 e 14 mm de diâmetro. Segundo os autores, a partir desta concentração não houve
752 efetividade do óleo sobre a bactéria em testes realizados ‘in vitro’.

753 Souza et. al (2005) avaliaram, ‘in vitro’, a eficiência de alguns fungicidas e óleos
754 essenciais de eucalipto e *C. winterianus* para controle de *Monilinia fruticola*, e
755 observaram que a aplicação do óleo de *C. winterianus* apresentou potencial para controle
756 do patógeno nas doses mais elevadas, eficiência semelhante aquela mostrada pelos
757 fungicidas triazóis e superior ao fungicida azoxystrobin e ao óleo de eucalipto. Pereira et
758 al. (2011), também obtiveram respostas positivas em relação a inibição do
759 desenvolvimento do fungo *C. coffeicola* com os mesmos óleos.

760 No tocante à esporulação, o efeito dos óleos somente foi verificado para os isolados
761 *F. solani* UNEF/163 e UENF/241, sendo esse último o mais sensível ao óleo; pois sua
762 esporulação foi totalmente paralisada quando foi empregada a alíquota de 20 µl de
763 eucalipto comercial, *E. citriodora* e *E. grandis*; o óleo menos eficiente foi o de *R.*
764 *officinalis*, pois até mesmo sua maior alíquota (30 µl) não inibiu por completo a produção
765 de esporos (Figura 4).

766 Abreu (2006), testando ‘in vitro’ o óleo de *E. citriodora* nas concentrações de 0,
767 250, 500, 750 e 1000 µL/L encontrou redução de até 100% de germinação conidial de
768 *Alternaria solani*; em relação ao teste ‘in vivo’, no qual o autor comparou o efeito dos
769 tratamentos sobre o número de folhas doentes, a concentração de 750 µL/L reduziu em
770 59% e a de 1000 µL/L em 100% o número de folhas doentes.

771 Bonaldo et al. (2004) observaram que o extrato de *E. citriodora* inibiu a
772 germinação de conídios de *Colletotrichum lagenaria* em mais de 90%. Já BALBI-PEÑA et
773 al. (2006) notaram que os extratos de *Curcuma attenuata* Wall. (açafraão) a 10 e 15%
774 inibiram a germinação de esporos de *F. solani* em 71,7% e 87%, respectivamente.

775 Assim como o observado no teste de crescimento micelial e produção de esporos,
776 houve também aumento da inibição da germinação dos esporos quando as concentrações
777 dos óleos de *Eucalyptus* sp., *E. citriodora*, *E. grandis*, *R. officinales*, *C. winterianus* e *O.*
778 *gratissimum* foram aumentadas (Figura 6). O potencial da atividade biológica desses óleos
779 contra *F. solani* está relacionado à sua considerável quantidade de componentes químicos
780 com ação antifúngica (WHITTAKER e FEENEY, 1971).

781 Alves et al. (2002) relataram a eficiência do óleo essencial de *E. citriodora*, em
782 testes realizados ‘in vitro’, sobre a germinação de conídios e crescimento micelial do fungo
783 *Colletotrichum musae*. Sousa Junior et al. (2011), verificaram inibição de 100% da
784 germinação de esporos do fungo *C. gloeosporioides* quando este foi colocado em contato
785 com os óleos essenciais de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham), *O. gratissimum*, *C.*
786 *citratum* e *Psidium* sp.

787 A porcentagem de inibição da germinação de esporos dos isolados UNEF/163 e
788 UENF/241 na menor alíquota testada do óleo de *E. grandis* (5µl) foi de mais de 30%, já na
789 alíquota de 15 µl a inibição foi total (Figura 6). Alguns autores atribuem esse resultado ao
790 composto monoterpeneo α-pineno, componente majoritário do óleo de *E. grandis*. Segundo
791 alguns autores, esse composto é capaz de inibir a respiração e os processos de transporte
792 de íons promovendo um comprometimento da integridade da membrana das células,
793 levando-a a morte (PEREIRA, 2010).

794 O óleo de *R. officinalis* foi o que menos inibiu a germinação de esporos, o
795 crescimento micelial e o número de esporos (Figura 4, 5 e 6). Diversos autores relataram
796 que, de maneira geral, esse óleo não é efetivo para inibição do desenvolvimento de
797 microrganismos. DAFERERA et al. (2003), para reduzir em 50% crescimento micelial de
798 *B. cinérea*, tiveram que utilizar 606 µg/ml de óleo. Itako et al. (2009), relataram que o

799 extrato bruto aquoso de *R. officinalis* na concentração de 40% reduziu o crescimento
800 micelial de *Cladosporium fulvum* em 49,06%. Scapim et al. (2010), avaliando extrato de *R.*
801 *officinalis* nas concentrações de 1, 10, 20 e 40%, observaram que a medida que se
802 aumentou a concentração do óleo ocorreu redução do desenvolvimento do fungo
803 *Exserohilum turcicum*, sendo que a concentração de 40% promoveu inibição de apenas
804 54%. O mesmo ocorreu no presente ensaio, pois provavelmente, alíquotas mais elevadas
805 do óleo seriam necessárias para surtir efeito satisfatório sobre as características avaliadas
806 do fungo.

807 O número de esporos germinados na presença de 30 µl do óleo de *R. officinalis*
808 para o isolado do *F. solani* UENF/241 foi reduzido em mais de 80%, já para o isolado *F.*
809 *solani* UENF/163 a redução foi de aproximadamente 40% (Figura 5). Isso demonstra que o
810 efeito do óleo sobre a produção de conídios depende não apenas do óleo, mas também do
811 isolado fúngico.

812 Segundo Abreu (2006), a avaliação do efeito de óleos essenciais na inibição da
813 germinação de esporos é fundamental, pois os esses são estruturas de propagação e, em
814 alguns casos, resistência de fungos. Segundo os autores, para ser bem sucedida, a
815 utilização de um óleo essencial no manejo de fungos deverá inibir não apenas o
816 crescimento micelial, mas também a germinação dos esporos.

817 Observando os resultados apresentados nas Tabelas 4, 5 e 6, é possível notar que
818 alguns óleos essenciais testados apresentaram índices variáveis de inibição do
819 desenvolvimento micelial dos três isolados de *F. solani* em relação à testemunha.

820 Ao verificar o efeito entre os tratamentos, nota-se que os óleos essenciais de *S.*
821 *aromaticum* e *C. zeylanicum* apresentaram melhores resultados na redução do crescimento
822 micelial dos três isolados, pois todas as alíquotas do óleo inibiram em 100% o diâmetro
823 dos halos miceliais. Já o óleo essencial do *R. officinalis* não mostrou boa atividade, sendo o
824 menos efetivo para a inibição do desenvolvimento micelial. Costa et al. (2011), ao testar o
825 efeito fungitoxico do óleo de *S. aromaticum* sobre os fungos *R. solani*, *F. oxysporum* e
826 *M. phaseolina* observaram que o óleo causou danos celulares aos fungos.

827

828

829

830

831

832 **Tabela 4** - Diâmetro dos halos miceliais (cm) de *Fusarium solani* UENF/CF 163, isolado
 833 de raiz de goiabeira, em resposta à utilização de diferentes alíquotas (μL) dos óleos
 834 essenciais de nove espécies botânicas. Alegre, ES, 2012.

Alíquotas	5	10	15	20	25	30
Espécies botânicas						
<i>R. officinalis</i>	7.58b	7.28b	5.42b	5.12b	5.24b	5.18b
<i>Eucalyptus</i> sp.	6.24c	6.02c	2.74c	2.50c	2.50c	1.38c
<i>E. citriodora</i>	4.86d	4.28d	1.10d	0.00d	0.00d	0.98c
<i>E. grandis</i>	4.20d	4.3d	0.00e	0.00d	0.00d	0.00c
<i>C. winterianus</i>	3.74d	2.36e	0.00e	0.00d	0.00d	0.00c
<i>C. citratus</i>	2.18e	0.20f	0.00e	0.00d	0.00d	0.00c
<i>O. gratissimum</i>	2.08e	0.00f	0.00e	0.00d	0.00d	0.00c
<i>S. aromaticum</i>	0.00f	0.00f	0.00e	0.00d	0.00d	0.00c
<i>C. zeylanicum</i>	0.00g	0.00f	0.00e	0.00d	0.00d	0.00c
Testemunha	9.00a	9.00a	9.00a	9.00a	9.00a	9.00a

835 Médias seguidas pela mesma letra em coluna não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo
 836 teste Scott knott.

837

838

839

840

841

842

843

844

845

846

847

848 **Tabela 5** - Diâmetro dos halos miceliais (cm) de *Fusarium solani* UENF/CF 241, isolado
 849 de raiz de goiabeira, em resposta ao emprego de diferentes alíquotas (µL) dos óleos
 850 essenciais de nove espécies botânicas. Alegre, ES, 2012.

Alíquotas	5	10	15	20	25	30
<i>R. officinalis</i>	7.44b	7.04b	5.58b	4.94b	4.58b	3.86b
<i>Eucalyptus</i> sp.	6.16c	5.14c	1.02c	2.00c	2.00c	1.62c
<i>E. citriodora</i>	5.80c	4.78c	0.30d	0.38d	0.00d	0.00d
<i>E. grandis</i>	4.88d	4.10d	0.00d	0.00d	0.00d	0.00d
<i>C. winterianus</i>	1.82e	0.00e	0.00d	0.00d	0.00d	0.00d
<i>C. citratus</i>	0.92e	0.00e	0.00d	0.00d	0.00d	0.00d
<i>O. gratissimum</i>	0.60f	0.00e	0.00d	0.00d	0.00d	0.00d
<i>S. aromaticum</i>	0.00g	0.00de	0.00d	0.00d	0.00d	0.00d
<i>C. zeylanicum</i>	0.00g	0.00e	0.00d	0.00d	0.00d	0.00d
Testemunha	9.00a	9.00a	9.00a	9.00a	9.00a	9.00a

851 Médias seguidas pela mesma letra em colun anão diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo
 852 teste Scott knott.

853

854

855

856

857

858

859

860

861

862

863

864

865

866 **Tabela 6** - Diâmetro dos halos miceliais (cm) de *Fusarium solani* UENF/CF 295, isolado
 867 de raiz de goiabeira, em resposta ao emprego de diferentes alíquotas (μL) dos óleos
 868 essenciais de nove espécies botânicas. Alegre, ES, 2012

Alíquotas	5	10	15	20	25	30
<i>R. officinalis</i>	8.62b	7.10b	7.180b	6.520b	6.46b	6.24b
<i>Eucalyptus</i> sp.	7.62c	6.96b	0.00c	3.50c	3.50c	1.90c
<i>E. citriodora</i>	6.78c	5.30c	1.400c	0.94d	1.50d	0.48d
<i>E. grandis</i>	4.98d	0.00e	1.282c	0.26d	0.00d	0.00d
<i>C. winterianus</i>	4.72d	4.90c	0.00d	0.00d	0.00d	0.00d
<i>C. citratus</i>	3.34e	2.52d	0.00d	0.00d	0.00d	0.00d
<i>O. gratissimum</i>	1.24f	0.00e	0.00d	0.00d	0.00d	0.00d
<i>S. aromaticum</i>	0.00g	0.00e	0.00d	0.00d	0.00d	0.00d
<i>C. zeylanicum</i>	0.00g	0.00e	0.00d	0.00d	0.00d	0.00d
Testemunha	9.00a	9.00a	9.00a	9.00a	9.00a	9.00a

869 Médias seguidas pela mesma letra em coluna não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo
 870 teste Scott knott.

871

872 Na alíquota de 15 μL para os óleos de *C. winterianus*, *C. citratus* e *O. gratissimum*
 873 houve 100% de inibição do crescimento micelial para todos os isolados fungicos (Tabelas
 874 4, 5 e 6).

875 O óleo de *E. citriodora* apresentou inibição total do halo micelial dos UENF/CF
 876 163 e UENF/CF 241 á partir das alíquotas de 20 e 25 μL , respectivamente (Tabelas 4 e 5).
 877 Pereira et al. (2007), testando diferentes concentrações de óleo essencial de *E. citriodora*
 878 sobre os fungos *C. musae* e *C. gloeosporioides*, causadores da podridão da banana,
 879 observaram inibição de 61% do desenvolvimento micelial do *C. gloeosporioides* e 84% do
 880 *C. musae*.

881 Os óleos de *E. grandis*, *C. winterianus*, *C. citratus* e *O. gratissimum* foram
 882 eficientes na inibição da produção de esporos (Tabelas 7, 8 e 9). O óleo de *O. gratissimum*
 883 foi 100% eficaz a partir da alíquota de 10 μl para os três isolados de *F. solani*; O óleo de

884 *C. citratus* apresentou 100% de eficiência a partir das alíquotas 10 µl para os isolados
885 UENF/CF 241 e UENF/CF 295 e à partir de 15 µl para o isolado UENF/CF 163; o óleo de
886 *C. winterianus* reduziu em 100% a produção de esporos à partir de 10 µl para o isolado
887 UENF/CF 241 e à partir de 15 µl para os isolados UENF/CF 163 e UENF/CF 295 (Tabelas
888 7, 8 e 9). Benini et al. (2010) avaliaram o efeito de óleo essencial de *O. gratissimum* nas
889 alíquotas de 20, 40 e 60 µl e constaram que todas as alíquotas promoveram inibição
890 completa do desenvolvimento dos fitopatógenos *Rastonia solanacearum*, *S. rolfsii*,
891 *Phytophthora* sp. e *A. alternata*.

892 Guimarães et al. (2007) relataram que para o fungo *C. gloeosporioides* a aliquota
893 mínima inibitória do óleo de *C. citratus* foi de 500 µL. Os autores estudaram também o
894 efeito dos componentes majoritários obtidos a partir do óleo de *C. citratus* (citról e
895 mircenol) sobre o fungo. A aliquota mínima (500 µL) do citról inibiu em 100% o
896 crescimento micelial do fungo; já a atividade fungicida do composto mircenol foi baixa na
897 aliquota de 500 µL, com inibição de apenas 22,17% do crescimento micelial. Isso
898 demonstra que a eficiência do óleo está em função não apenas dos seus componentes, mas
899 também do fungo sobre o qual o óleo está sendo aplicado.

900 Silva et al. (2012), ao avaliar o efeito dos extratos *S. aromaticum*, *O. gratissimum* e
901 *C. citratus* sobre o crescimento dos fungos *C. gloeosporioides*, *F. oxysporum* f. sp
902 *vasinfectum* e *P. oryzae* observaram que o *S. aromaticum*, na concentração de 20%, inibiu
903 em 100% o desenvolvimento de todos os fungos; o extrato de *C. citratus* reduziu em 11%
904 o desenvolvimento de *C. gloeosporioides*, 43% *F. oxysporum* f. sp *vasinfectum* e 31% de
905 *P. oryzae*; já o extrato de *O. gratissimum* reduziu em 13, 22 e 24% o desenvolvimento dos
906 respectivos fungos. Isso demonstra a efetividade dos óleos dessas espécies botânicas no
907 controle de fungos, conforme também observado no presente trabalho, principalmente para
908 as alíquotas superiores a 10 µL.

909

910

911

912

913

914

915

916 **Tabela 7** - Número médio de esporos produzidos por *Fusarium solani* isolado UENF/CF
 917 163, obtidos a partir de raízes de goiabeira cv. Paluma com sintomas de declínio, em
 918 resposta ao tratamento com diferentes alíquotas (μL) dos óleos essenciais de nove espécies
 919 botânicas. Alegre, ES, 2012.

Alíquotas	5	10	15	20	25	30
<i>R. officinalis</i>	175.15b	115.23b	142.28b	143.63b	112.19b	142.28b
<i>Eucalyptus</i> sp.	121.31c	133.51b	27.19c	22.54c	22.54c	16.13c
<i>E. citriodora</i>	93.75c	118.3b	4.35c	0.00c	0.00c	0.78c
<i>E. grandis</i>	61.90c	75.050c	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c
<i>C. winterianus</i>	35.38d	7.086d	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c
<i>C. citratus</i>	27.63d	2.50d	0.00c	0.00c	0.00b	0.00c
<i>O. gratissimum</i>	8.89e	0.00d	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c
<i>S. aromaticum</i>	0.00e	0.00d	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c
<i>C. zeylanicum</i>	0.00e	0.00d	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c
Testemunha	147a	147a	147a	147a	147a	147a

920 Médias seguidas pela mesma letra em coluna não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo
 921 teste Scott knott.

922

923

924

925

926

927

928

929

930

931 **Tabela 8** - Número médio de esporos produzidos por *Fusarium solani* isolado UENF/CF
 932 241, obtidos a partir de raízes de goiabeira cv. Paluma com sintomas de declínio, em
 933 resposta ao tratamento com diferentes alíquotas (μL) dos óleos essenciais de nove espécies
 934 botânicas. Alegre, ES, 2012.

Alíquotas	5	10	15	20	25	30
<i>R. officinalis</i>	93.3b	84.83b	74.71b	76.06b	2.61b	5.94b
<i>Eucalyptus</i> sp.	107.2b	42.31c	3.15c	2.61c	0.00b	0.00b
<i>E. citriodora</i>	98.83b	58.22c	0.01c	0.71c	25.41b	21.73b
<i>E. grandis</i>	42.43c	45.33c	0.00c	0.00c	0.00b	0.00b
<i>C. winterianus</i>	0.13d	0.00d	0.00c	0.00c	0.00b	0.00b
<i>C. citratus</i>	0.41d	0.00d	0.00c	0.00c	0.00b	0.00b
<i>O. gratissimum</i>	0.06c	0.00d	0.00c	0.00c	0.00b	0.00b
<i>S. aromaticum</i>	0.00d	0.00d	0.00c	0.00c	0.00b	0.00b
<i>C. zeylanicum</i>	0.00d	0.00d	0.00c	0.00c	0.00b	0.00b
Testemunha	105a	105a	105a	105a	105a	105a

935 Médias seguidas pela mesma letra em coluna não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo
 936 teste Scott knott.

937

938

939

940

941

942

943

944

945 **Tabela 9** – Número médio de esporos produzidos por *Fusarium solani* isolado UENF/CF
 946 295, obtidos à partir de raízes de goiabeira cv. Paluma com sintomas de declínio, em
 947 resposta ao tratamento com diferentes alíquotas (μL) dos óleos essenciais de nove espécies
 948 botânicas. Alegre, ES, 2012.

Alíquotas	5	10	15	20	25	30
<i>R. officinalis</i>	198.81b	279.08b	261b	149.51b	203.71b	142.94b
<i>Eucalyptus</i> sp.	172.28b	232.85b	57.07b	83.36b	83.36b	19.03c
<i>E. citriodora</i>	233.3b	107.88b	14.11b	5.35c	7.56c	0.3c
<i>E. grandis</i>	98.85b	79.01b	0.52b	2.16c	4.28c	0.2c
<i>C. winterianus</i>	88.33b	21.5c	0.00b	0.00c	0.00c	0.00c
<i>C. citratus</i>	35.74c	0.00d	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c
<i>O. gratissimum</i>	3.2d	0.00d	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c
<i>S. aromaticum</i>	0.00d	0.00d	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c
<i>C. zeylanicum</i>	0.00d	0.00d	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c
Testemunha	251a	251a	251a	251a	251a	251a

949 Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste
 950 Scott knott.

951

952 Nas tabelas 10 e 11 constam os valores médios da porcentagem de inibição da
 953 germinação de esporos dos isolados *F. solani* UENF/163 e 241. Para o isolado UENF/295
 954 os valores não são apresentados porque a interação concentração x espécie não foi
 955 significativa.

956 Os óleos mais eficientes foram o *S. aromaticum* e *C. zeylanicum*, pois na menor
 957 alíquota (5 μl) já houve redução de 100% da germinação dos esporos de ambos os isolados
 958 fungicos. Por sua vez, o óleo de *O. gratissimum* reduziu em 100% a germinação de esporos
 959 dos dois isolados a partir da alíquota de 10 μl (Tabelas 11 e 12) .

960 Os óleos de *C. winterianus*, *C. citratus* e *O. gratissimum* inibiram totalmente a
 961 germinação de esporos do isolado UENF/CF 241 à partir de 10 μl e o *E. grandis* teve o

962 mesmo efeito à partir de 15 µl surtiu (Tabela 11). Os óleos dessas duas primeiras espécies
 963 botânicas inibiram a germinação de esporos do isolado UENF/CF 163 em 100% á partir da
 964 alíquota de 15 µl; efeito semelhante observado para o óleo de *O. gratissimum* à partir de
 965 10 µl (Tabela 10).

966 O óleo de *E. citriodora* foi totalmente eficiente na germinação de esporos à partir
 967 de 20 e 25 µl para os isolados UENF/CF 163 e UENF/CF 241, respectivamente, e, de
 968 maneira geral, os óleos de eucalipto comercial e *R. officinalis* foram os menos eficientes
 969 em todas as alíquotas testadas (Tabelas 10 e 11).

970

971 **Tabela 10** – Porcentagem de inibição da germinação de esporos de *Fusarium solani*
 972 UENF/CF 163, obtidos à partir de raiz de goiabeira cv. Paluma com sintomas de declínio,
 973 em resposta ao tratamento com diferentes alíquotas (µL) dos óleos essenciais de nove
 974 espécies botânicas. Alegre, ES, 2012.

Alíquotas	5	10	15	20	25	30
Espécies botânicas						
<i>R. officinalis</i>	15.56f	30.55e	25,90c	29.87d	34.89d	31.37c
<i>Eucalyptus</i> sp.	26.71f	29.69e	92.41b	78.46c	66.37c	86.86b
<i>E. citriodora</i>	41.53e	38.90e	92.41b	100b	100b	94.29b
<i>E. grandis</i>	60.472d	51.8d	100b	100b	100b	100b
<i>C. winterianus</i>	76.13c	84.48c	100b	100b	100b	100b
<i>C. citratus</i>	53.95c	98.04b	100b	100b	100b	100b
<i>O. gratissimum</i>	78.25c	100b	100b	100b	100b	100b
<i>S. aromaticum</i>	100 b	100b	100b	100b	100b	100b
<i>C. zeylanicum</i>	100 b	100b	100b	100b	100b	100b
Testemunha	0.00a	0.00a	0.00a	0.00	0.00a	0.00a

975 Médias seguidas pela mesma letra em coluna não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo
 976 teste Scott knott.

977 **Tabela 11** – Porcentagem de inibição da germinação de esporos de *Fusarium solani*
 978 UENF/CF 241, obtidos à partir de raiz de goiabeira cv. Paluma com sintomas de declínio,
 979 em resposta ao tratamento com diferentes alíquotas (μL) dos óleos essenciais de nove
 980 espécies botânicas. Alegre, ES, 2012.

Alíquotas	5	10	15	20	25	30
<i>R. officinalis</i>	6.66e	18.33d	30.50c	30.90d	57.38d	63.93d
<i>Eucalyptus</i> sp.	19.26d	45.61c	91.70b	85.42c	85.42c	86.37c
<i>E. citriodora</i>	22.15d	40.45c	97.99b	97.12b	100b	100b
<i>E. grandis</i>	47.29c	51.11c	100b	100b	100b	100b
<i>C. winterianus</i>	87.80b	100b	100b	100b	100b	100b
<i>C. citratus</i>	93.66b	100b	100b	100b	100b	100b
<i>O. gratissimum</i>	95.96b	100b	100b	100b	100b	100b
<i>S. aromaticum</i>	100b	100b	100b	100b	100b	100b
<i>C. zeylanicum</i>	100b	100b	100b	100b	100 b	100b
Testemunha	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a

981 Médias seguidas pela mesma letra em coluna não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste
 982 Scott knott.

983

984 A atividade antifúngica dos óleos essenciais, segundo alguns autores, pode estar
 985 relacionada com sua propriedade hidrofóbica; isso significa que ao entrar em contato com
 986 o fungo, os componentes do óleo interagem com a mitocôndria e os lipídeos da membrana

987 plasmática, alterando a sua permeabilidade, causando distúrbios estruturais, o que pode
988 promover a exposição do conteúdo celular, inclusive do núcleo (Silva et al., 2003; Bakkali
989 et al., 2008 e Costa et al., 2011). De fato, Rasooli et al. (2006), utilizando microscopia
990 eletrônica de varredura, conseguiram observar que a parede, membrana e organelas
991 celulares do fungo *A. niger* sofreram severos danos quando expostos aos óleos essenciais
992 de *Thymus eriocalyx* e *T. x-porlock*, enquanto que o micélio apresentou alterações
993 morfológicas nas suas hifas, interrupção e destruição das membranas plasmáticas e
994 mitocondriais. Costa et al. (2011), estudando o efeito do óleo essencial de *S. aromaticum*
995 sobre o fungo *R. solani*, também observaram diferentes alterações morfológicas das hifas.

996 Silva et al. (2009), avaliaram o efeito dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C.*
997 *gratissimum* sobre *C. gloeosporioides* e observaram que ocorreu 100% de inibição da
998 germinação de esporos do fungo, resultado esse que está de acordo com o observado na
999 presente pesquisa quando *F. solani* foi tratado esses óleos.

1000 Souza Júnior et al. (2009) testaram os óleos de *O. gratissimum* e *C. citratus* e
1001 obtiveram 100% de inibição da germinação de esporos de *C. gloeosporioides*. Medice et al.
1002 (2007), observaram que os óleos essenciais de *E. citriodora* e *C. winterianus* nas
1003 concentrações 0,1%; 0,5%; 1,0% e 0,3% promoveram a inibição de 100% da germinação
1004 dos uredinósporos de *Phakopsora pachyrhizi* Syd. e P. Syd, agente causal da ferrugem da
1005 soja.

1006 Lorenzetti et al. (2011), analisaram os efeitos dos óleos de *C. citratus*, menta
1007 (*Mentha* sp.), *Eucalyptus* sp., cravo (*S. aromaticum*), e *C. zeylanicum* sobre *B. cinerea* e
1008 relataram que houve inibição completa da esporulação do fungo. De acordo com os
1009 autores, a atividade antifúngica foi atribuída aos componentes majoritários presentes nesse
1010 óleo, quais sejam: o eugenol, *trans*-2-hexenal, carvacrol, *trans*-cinamaldeído, citral,
1011 geraniol e o mentol.

1012

1013 **4.3. Mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *M. enterolobii***

1014

1015 Para a porcentagem de mortalidade de J2 de *M. enterolobii* não houve efeito
1016 significativo dos tratamentos para a interação óleo x concentração, ou seja, os tratamentos
1017 somente foram significativos ($P \leq 0,05$) para os efeitos principais.

1018 Na tabela 12 observa-se que todos os óleos essenciais foram eficientes na
1019 mortalidade dos J2. Os óleos mais eficientes que comporam o primeiro grupo foram: *O.*

1020 *gratissimum*, *C. zeylanicum* e *S. aromaticum* (todos com 100% de mortalidade dos J2) e
1021 eucalipto comercial (99,74%), o segundo grupo foi formado pelos óleos de *C. winterianus*
1022 (96.93%), *E. grandis* (96.86%), *C. citratus* (96.73%) e *E. citriodora* (93.57%) e, por fim,
1023 no terceiro grupo ficou o óleo de *R. officinalis*, sendo o menos eficiente com 79.76% de
1024 mortalidade, mas ainda sim, promovendo elevado índice de mortalidade em relação à
1025 testemunha (Tabela 12).

1026 Kong et al. (2006), ao testar élos essenciais no manejo de *Bursaphelenchus*
1027 *xylophilus* (Steiner e Buhner), agente causal da murcha do pinheiro, observaram que os
1028 melhores resultados foram obtidos com a utilização dos óleos de *C. zeylanicum* e *S.*
1029 *aromaticum* na concentração de 0,12 mg/mL, causando mortalidade de 100%. No presente
1030 estudo, os óleos dessas duas espécies vegetais provocaram a mortalidade total dos J2. Em
1031 outro estudo, Barbosa et al. (2010) testaram o óleo essencial de *C. citratus* (2 mg/mL) ‘in
1032 vitro’ e observaram 98% na mortalidade de *Bursaphelenchus xylophilus*.

1033 É possível que os óleos testados no presente trabalho possuam compostos com
1034 distintas atividades biológicas sobre os J2 de *M. enterolobii*. Além disso, é importante
1035 destacar que no presente estudo nenhum J2 recuperou a mobilidade após ser incubado em
1036 água, tal como observado por outros autores, indicando que esses óleos apresentam ação
1037 nematicida e não nematostática (SALGADO et al., 2003; NEVES et al., 2008;
1038 ECHEVERRIGARAY et al., 2010),

1039 Os óleos essenciais podem interferir na atividade metabólica dos nematoides
1040 promovendo a desorganização ou inibição das funções vitais desde início do
1041 desenvolvimento embrionário, como também na sua movimentação, que pode ser em razão
1042 alteração da permeabilidade da membrana celular e desestruturação do sistema nervoso
1043 (Oka et al., 2000 e Salgado et al., 2003).

1044 Segundo Bakkali et al. (2008), os óleos essenciais, ao entrarem em contato com a
1045 membrana citoplasmática, podem promover a ruptura da estrutura de polissacarídeos,
1046 lipídeos e fosfolipídios, provocando a despolarização da membrana, como as das
1047 mitocôndrias, resultando na liberação de íons de cálcio e proteínas.

1048 Outros autores, como Bruni et al. (2004), atribuem a ação nematicida dos óleos
1049 essenciais à presença de fenóis, aldeídos e álcoois que promovem a oxidação de
1050 membranas. Pérez et al. (2003) observaram que a medida que as concentrações dos óleos
1051 essenciais foram aumentadas, houve maior porcentagem de mortalidade de J2 *Meloidogyne*
1052 *artiellia*. Segundo Echeverrigaray et al. (2010), J2 de *M. incognita*, após entrarem contato

1053 com monoterpenoides α -pineno, geraniale, citral e citronelal, não conseguiram recuperar a
 1054 mobilidade quando incubado em água novamente, demonstrando o efeito nematicida
 1055 desses compostos que também estão presentes nos óleos essenciais testados.

1056

1057 **Tabela 12-** Porcentagem de J2 de *M. enterolobii* mortos após 24 horas de exposição a
 1058 óleos essenciais de nove espécies botânicas. Alegre, ES, 2012.

Especies botânicas	% de mortalidade	Grupos
<i>Ocimum gratissimum</i>	100	A
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	100	A
<i>Syzygium aromaticum</i>	100	A
<i>Eucalyptus</i> sp.	99.74	A
<i>Cymbopogon winterianus</i>	96.93	B
<i>Eucaliptus grandis</i>	96.86	B
<i>Cymbopogon citratus</i>	96.73	B
<i>Eucalyptus citriodora</i>	93.57	B
<i>Rosmarinos officinalis</i>	79.76	C
Testemunha	00,00	D

1059 Médias seguidas pela mesma letra em coluna não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste
 1060 Scott knott.

1061

1062 Para a porcentagem de J2 de *M. enterolobii* eclodidos não houve efeito significativo
 1063 dos tratamentos na interação óleo x concentração, sendo significativos ($P \leq 0,05$) somente
 1064 para os efeitos principais (Tabela 13).

1065 Todos os óleos foram eficientes na redução da eclosão dos J2 em relação à
 1066 testemunha. O primeiro grupo dos óleos mais eficientes foi formado por: *O. gratissimum*
 1067 (0%), *S. aromaticum* (0%), *C. zeylanicum* (0%), eucalipto comercial (3,16%) e *C.*
 1068 *winterianus* (3,9%); segundo grupo: *E. grandis* (20,86%) e *C. citratus* (20,23%); terceiro
 1069 grupo: *E. citriodora* (44,7%); quarto grupo: *R. officinalis* (65,13%) (Tabela 13).

1070 Através de alguns estudos já ficou demonstrado que a utilização de óleos
 1071 essenciais pode ser eficiente em inibir a eclosão de juvenis de nematoides. Neves et al.
 1072 (2005), por exemplo, concluíram que o óleo essencial de mostarda (*Brassica juncea* L.) nas
 1073 concentrações de 1000, 400 e 200 ppm inibiu a eclosão de J2 de *M. javanica*.

1074 Segundo Echeverrigaray et al. (2010), os monoterpenos borneol, carvenol, citral,
 1075 gernaniol, menthol, terpinen-4-ol, e α -terpineol inibiram em mais de 90% a eclosão e a
 1076 mobilidade de J2 de *M. incognita* quando utilizados na concentração de 250 mg L¹.
 1077 Moreira et al. (2009) também observaram redução de 100% da eclosão de J2 de *M.*
 1078 *incognita* raça 2 tratados com os óleos de citronela (*C. winterianus*, alecrim (*R. officinalis*),
 1079 capim santo (*C. citratus*).

1080

1081 **Tabela 13**-Porcentagem de J2 de *M. enterolobii* eclodidos após 21 dias de exposição a
 1082 diferentes óleos essenciais. Alegre, ES, 2012.

Especies botânicas	Médias	Grupos
<i>Ocimum gratissimum</i>	0	E
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	0	E
<i>Syzygium aromaticum</i>	0	E
<i>Eucalyptuss</i> sp.	3.16	E
<i>Cymbopogon winterianus</i>	3,9	E
<i>Eucaliptus grandis</i>	20.86	D
<i>Cymbopogon citratus</i>	20.23	D
<i>Eucalyptus citriodora</i>	44.7	C
<i>Rosmarinos officinalis</i>	65.13	B
Testemunha	100	A

1083 Médias seguidas pela mesma letra em coluna não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste
 1084 Scott knott.

1085

1086

1087

1088

5. COSIDERAÇÕES FINAIS

1089

1090

1091

1092

1093

Muitas tentativas de manejo do declínio da goiabeira não têm se mostrado eficientes, como utilização de nematicidas, fungos nematófagos (*P. lilacinus* e *P. chlamydosporia*), *Pasteuria penetrans*, rizobacterias, resistência genética, adição de materiais orgânicos ao solo, entre outras.

1094

1095

1096

1097

1098

Talvez, esse insucesso de manejo se deva ao fato da comunidade científica desconhecer, até aproximadamente dois anos atrás, que o declínio da goiabeira não é causado simplesmente pelo parasitismo de *M. enterolobii* sobre as plantas, mas que se trata uma doença complexa na qual o parasitismo desse nematóide predispõe a planta à podridão radicular causada pelo fungo *Fusarium solani*.

1099

1100

1101

1102

1103

1104

1105

Esse novo conhecimento muda o foco do manejo, pois a partir dessa descoberta o alvo passa a ser não apenas o nematóide, mas também o fungo. Isso ressalta a importância de se estudar de forma preliminar ‘in vitro’ e/ou casa de vegetação a eficiência de fungos e bactérias antagonistas aos nematóides, materiais orgânicos, óleos essenciais, entre outros, não apenas contra *M. enterolobii*, mas também contra *F. solani*, assim como foi feito na presente pesquisa, para que futuramente esses estudos sejam realizados também em nível de campo.

1106

1107

6. CONCLUSÕES

1108

1109

1110

1111

1112

1113

1114

1115

1116

1117

Os óleos essenciais de *O. gratissimum*, *C. zeylanicum*, *S. aromaticum* foram os mais eficientes em todos os parâmetros avaliados nesse estudo, tanto para *F. solani* quanto para *M. enterolobii*, o que indica a existência de compostos com ação fungicida e nematicida nesses óleos e indica também o seu potencial para utilização no manejo integrado do declínio da goiabeira. Vale destacar também que os óleos de *E. grandis*, *C. winterianus* e *C. Citratus*, embora menos eficientes que os óleos mencionados anteriormente, merecem ser estudados em experimentos futuros, pois também apresentaram resultados satisfatórios tanto para as avaliações relacionadas ao fungo quanto ao nematóide.

1118

1119 **7. REFERÊNCIAS**

1120

1121 ABREU, C. L. M. **Controle de *Alternaria solani* em tomateiro (*Lycopersicon***
1122 ***esculentum*) com óleos essenciais.** Tese doutorado. Universidade Estadual Paulista,
1123 Faculdade de Ciências Agronomica, Botucatu, 71 p., 2006.

1124 ADAMS, R.P. **Identification of essential oils components by gas**
1125 **chromatography/mass spectroscopy.** Carol Stream: Allured, 2001. 456p.

1126 ALMEIDA, A. M.; GOMES, V. M.; SOUZA, R. M. Avaliação estufa e campo de
1127 rizobactérias para controlar o declínio de goiaba. **Bragantina**, v.70, n.4, p. 837-842, 2011.

1128 AL-REZA, S. M.; RAHMAN, A.; AHMED, Y.; KANG, S. C. Inhibition of plant
1129 pathogens in vitro and in vivo with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum*
1130 L. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 96, p. 86-92, 2010.

1131 ANDRADE et al. Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e
1132 *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. **Revista Ciências**
1133 **Agronomica**, v. 43, n. 2, p. 399-408, 2012.

1134 ARRUDA, G. M. T.; MILLER, R. N. G.; FERREIRA, M. A. S.; CAFE-FILHO. A. C.
1135 Morphological and molecular characterization of the sudden-death syndrome pathogen of
1136 soybean in Brazil. **Plant Patho**, v. 54: p. 53-65. 2005.

1137 AZAMBUJA, W. **Química dos óleos essenciais e numero de CAS.** 2011. W.. Timol.
1138 Disponível em:
1139 http://oleosessenciais.org/category/padroes_tipos/padroes/q_t_padroes/timol/, Acesso em:
1140 25 de ago. de 2012.

1141 BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of
1142 essential oils—A review.**Food and chemical toxicology**. V. 46(4): p. 446-475, 2008.

1143 BALBI-PEÑA, M. I., BECKER, A., STANGARLIN, J. R., FRANZENER, G; LOPES, M.
1144 C. E.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por

- 1145 extratos de *Curcuma longa* e curcumina – I. Avaliação in vitro. **Fitopatologia Brasileira** v.
1146 31: p. 310-314, 2006.
- 1147 BARBOSA, F. R. **Goiaba. Fitossanidade**. Petrolina: EMBRAPA-Semi-árido. 63 p.2001.
- 1148 BARBOSA, et al. Nematicidal activity of essential oils and volatiles derived from
1149 Portuguese aromatic flora against the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*
1150 **Journal of Nematology**, v. 42, n. 1, 2010.
- 1151 BASTOS, C. N. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipelis* e outros fungos
1152 fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, v.22, n.3, p.441-3, 1997.
- 1153 BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, P. S. B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle
1154 em pós-colheita de *Colletotricum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**. v. 29. n.5.
1155 p. 555-557. 2004.
- 1156 BENINI et al. Efeito in vitro do óleo essencial e extrato aquoso de *ocimum gratissimum*
1157 colhido nas quatro estações do ano sobre fitopatógenos. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.77,
1158 n.4, p.677-683, 2010.
- 1159 BONALDO, S.M., SCHWAN-ESTRADA, K.R.F., STANGARLIN, J.R., TESSMANN,
1160 D.J.; SCAPIM, C.A. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de
1161 pepino contra *Colletotrichum lagenaria* pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*.
1162 **Fitopatologia Brasileira**, v. 29: p. 128-134. 2004.
- 1163 BOUCHRA et al. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven
1164 Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers: Fr. **Journal of Ethnopharmacology**, p.
1165 165–169, 2003.
- 1166 BOZIN et al. Antimicrobial and Antioxidant Properties of Rosemary and Sage
1167 (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) Essential Oils.**J. Agric.**
1168 **Food Chem.**, v. 55, n.. 19, 2007.
- 1169 BRITO, J. A.; STANLEY, J. D.; CETINTAS, R.; KAUR, R.; DICKSON, D. W. Two
1170 emerging species of root-knot nematodes in Florida, USA: *Meloidogyne mayaguensis* and
1171 *M. floridensis*. **5 TH INTERNATIONAL CONGRESS OF NEMATOLOGY**,
1172 **Australia, Proceedings**, p.156, 2008.

- 1173 BRUNI, R.; MÉDICI, A.; ANDREOTTI, E.; FANTIN, C.; MUZZOLI, M.; DEHESA, M.;
1174 ROMAGNOLI, C.; SACCHETTI, G. Chemical composition and biological activities of
1175 Ishpingo essential oil, a traditional Ecuadorian spice from *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm.
1176 (Lauraceae) flower calices. **Food Chemical**. v. 85, n.4: p. 415-421, 2004.
- 1177 BURLA, R. S.; SOUZA, R. M.; GONÇALVES, JR. E.; MOREIRA, F. O. M. Reação de
1178 acessos de *Psidium* spp. a *Meloidogyne mayaguensis*. XXVII CONGRESSO BRASILEIRO
1179 DE NEMATOLOGIA. Goiânia. Resumos. **Nematologia Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 127.
1180 2007.
- 1181 CAB International. 2001. ***Meloidogyne mayaguensis* in Crop protection compendium.**
1182 **global module**. 3 edition. Wallingford. UK: CAB International.
- 1183 CAMARGO, L. E. A.; BERGAMIN, FILHO. A. **Controle Genético**. In: BERGAMIN
1184 FILHO. A.; KIMATI. H.; AMORIN. L. Manual de Fitopatologia. Princípios e Conceitos.
1185 v.1. 3ª ed. São Paulo. SP. Agronômica Ceres Ltda. p.729-760. 1995.
- 1186 CARARO et al. Produção Agrícola Municipal Culturas Temporárias e Permanentes
1187 volume 37 2010. **Brasil. Prod. agric. munic.**, Rio de Janeiro, v. 37, p.1-91, 2010.
- 1188 CARNEIRO, R. M. D. G.; MOREIRA, W. A.; GOMES, A. C. M. M. Primeiro registro de
1189 *Meloidogyne enterolobii* em goiabeira no Brasil. **Nematologia Brasileira**. v. 25, n. 2, p.
1190 223-228. 2001.
- 1191 CARNEIRO, R. M. D. G.; TIGANO, M. S.; JORGE, C. L.; TEIXEIRA, A. C. O.;
1192 CORDEIRO, M. C. Selection and polymorfism of *Pasteuria penetrans* isolates in relation
1193 to *Meloidogyne* spp. from coffee. **Nematology. Leiden**, v. 6. n. 2. p. 287-298. 2004.
- 1194 CARNEIRO et al. Efeito de fungos nematófagos sobre a reprodução de *Meloidogyne*
1195 *enterolobii* em goiaba (*Psidium guajava*) plantas. **Nematologia Brasileira**, v. 13. N. 6. p.
1196 721-728 . 2011.
- 1197 CARNELOSSI, P. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.;
1198 MESQUINI, R. M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum*
1199 *gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11,
1200 n. 4, p. 399-406, 2009.

- 1201 CASTRO et al. Teor e composição do óleo essencial de cinco acessos de mentrasto.
1202 **Química Nova**, v. 27, n.1, 2004.
- 1203 CHAGAS et al. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de
1204 *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v. 39, n. 5, p. 247-
1205 253, 2002.
- 1206 CHAGAS et al. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de
1207 *Eucalyptus*spp em *Boophilus microplus*. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci**, v.39, n.5, p. 247-
1208 253, 2009.
- 1209 CHEN, W.; HOITINK, A.J.; SCHMITTHENNER, A.F.; TUOVINEN, O.H. The role of
1210 microbial activity in supresion of damping-off caused by *Pythium ultimum*.
1211 **Phytophatology**, v.78, p.314-322, 1988.
- 1212 CHEN, W.; VIJOEN, A.M. Geraniol - A review of a commercially important fragrance
1213 material. **South African Journal of Botany, Scottsville**, v.76, p.643-651, 2010.
- 1214 CIMANGA, K. et al. Correlation between chemical composition and antibacterial activity
1215 of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of
1216 Congo. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, n. 2, p. 213-220, 2002.
- 1217 COSTA, R. V.; CASELA, C.R.; ZAMBOLIM, L.; FERREIRA, A. S. A Antracnose do
1218 Sorgo. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v. 28, p. 345-354, 2003.
- 1219 COSTA et al. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do
1220 óleo essencial de capim-limão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 4, p. 956-959,
1221 2005.
- 1222 COSTA et al. Bacterial growth i *in vitro* of *Erwinia carotovora* by the essential oil of
1223 rosemary. **Tecnol. e Ciên. Agropec.**, João Pessoa, v.2., n.2, p.7-10, 2008.
- 1224 COSTA, A. R. T.; AMARAL, M. F. Z. J.; MARTINS, P. M.; PAULA, J. A. M.; FIUZA,
1225 T. S.; RESVENZOL, L. M. F.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Ação do óleo essencial de
1226 *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. e L. M. Perry sobre as hifas de alguns fungos
1227 fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n.2, p.240-245, 2011.

- 1228 CRUZ et al. Composição química e avaliação do potencial fungicida do óleo essencial de
1229 *Plectranthus amboinicus* sobre *Fusarium solani* uenf/163 da goiabeira. **Enciclopédia**
1230 **Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.8, n.15; p. 466-478, 2012.
- 1231 DAFERERA et al. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis*
1232 *cinerea*, *Fusarium* sp and *Clavibacter michiganensis* subsp.*michiganensis*. **Crop**
1233 **Protection**, v. 22, p. 39-44, 2003.
- 1234 DOMIJAN, A. M.; PERAICA, M.; ZLENDER, V.; CVJETKOVIC, Z.; JURJEVIC, S.
1235 TOPOLOVEC-PINTARIC; IVIC, D. Seed-borne fungi and ochratoxin A contamination of
1236 dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in the Republic of Croatia. **Food and Chemical**
1237 **Toxicology**, Oxford, v.43, p.427-432, 2005.
- 1238 DORAN, J. C. Comercial sources, uses, formation and bioly. In: Boland, D. J., Brophy, J.
1239 J., House, A. P. N. **Eucalyptus leaf oils: use, chemistry, distillation and marketing.**
1240 Melbourne: Inkata, p. 11-28, 1991.
- 1241 DORNER, J. W.; COLE, R. J. Effect of application of nontoxigenic strains of *Aspergillus*
1242 *flavus* and *A. parasiticus* on subsequent aflatoxin contamination of peanuts in storage.
1243 **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 38, n.4, p.329–339, 2002.
- 1244 DUTRA et al. Manejo do solo e da Irrigação para o controle de *Meloidogyne javanica* em
1245 alface. **Nematologia Brasileira**.v. 27. n. 1. p. 29-34. 2003.
- 1246 ECHEVERRIGARAY, S.; ZACARIA, J.; BELTRÃO, R. Nematicidal activity of
1247 monoterpenoids against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Phytopathology**.
1248 v. 100, n. 2, p. 199-203, 2010.
- 1249 ESTANISLAU et al. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais
1250 de cinco espécies de Eucalyptos cultivadas em Goias. **Revista Brasileira de**
1251 **Farmacologia**, v. 11, n. 2, p. 95-100, 2001.
- 1252 FAO-CCP (**Food and Agriculture Organization of the United Nations – Committee on**
1253 **Commodity Problems**). 2010. Tropical Fruits Compendium. Disponível em:
1254 <http://www.fao.org/unfao/bodies/ccp/ccp66/Index_en.htm>. Acesso em: 25 mai. 2011.

- 1255 FERRAZ, S.; VALLE, L. A. C. **Controle de Fitonematóides Por Plantas Antagonistas -**
1256 **Caderno de Ensino** N. 7. 1. ed. Viçosa, MG: Imprensa Universitária - Universidade
1257 Federal de Viçosa, v.1. 73 p.,1997.
- 1258 FERRAZ. S.; FREITAS. L.G. de; LOPES. E. A.; DIAS-ARIEIRA. C.R. **Manejo**
1259 **sustentável de fitonematóides**. Viçosa. MG. Ed. UFV. 2010. p. 139-169.
- 1260 FERRAZ S.; FREITAS L. G. de. **O controle de fitonematóides por plantas antagonistas**
1261 **e produtos naturais**. Documento de trabalho. Viçosa, MG. Universidade Federal de
1262 Viçosa, 2004. Disponível em <http://www.ufv.br/dfp/lab/nematologia/antagonistas.pdf>.
1263 Acesso em: abr. 2012.
- 1264 FRANCISCO, P. R. M. **Classificação e mapeamento das terras para mecanização do**
1265 **Estado da Paraíba utilizando sistemas de informações geográficas**. Dissertação
1266 (Mestrado em Manejo de Solo e Água). Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal
1267 da Paraíba, Areia, 2010.
- 1268 FRANZ, A.R; KNAAK, N. E FIUZA, L.M. Toxic effects of essential plant oils in adult
1269 *Sitophilus oryzae* (Linnaeus) (Coleoptera, Curculionidae). **Rev. Bras. entomol.** v. 55, n. 1,
1270 p. 116-120, 2011.
- 1271 FURTADO et al. Atividade larvicida de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* L. (Díptera:
1272 Culicidae). **Neotrop.Entomol.**, v. 34, p. 843-847, 2005.
- 1273 GACHKAR, L.; YADEGARI, D.; REZAEI, M.B.; TAGHIZADEH, M.; ASTANEH, S.A.;
1274 RASOOLI, I. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and
1275 *Rosmarinus officinalis* essential oils. **Food Chem**, v. 102, 898-904, 2007.
- 1276 GANAIE, M.A.e KHAN, T.A. Studies on the interactive effect of *Meloidogyne incognita*
1277 and *Fusarium solani* on *Lycopersicon esculentum* Mill. **International Journal of Botany**,
1278 2011.
- 1279 GARCIA, M. V.; SARMENTO-BRUM, R. B. C.; GONÇALVES, C. G.; SILVA, D. B.;
1280 SOUZA, E. R.; SANTOS, G. R. Efeito fungitóxico de óleos essenciais no crescimento
1281 micelial de *Pyricularia grisea*. *Tropical Plant Pathology*. v. 36 (Suplemento). Agosto,
1282 **XLIV Congresso Brasileiro de Fitopatologia - Bento Gonçalves RS**. 2011.

- 1283 GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo
1284 de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, p. 374-381, 2007.
- 1285 GOMES, V. M. 2007. **Meloidoginose da goiabeira: estudos sobre a sua patogênese e**
1286 **formas de convívio com a doença a campo.** (Dissertação de Mestrado). Universidade
1287 Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes (RJ). 67 p.
- 1288 GOMES, V. M., SOUZA R. M., SILVA M. M., DOLINSKI C. Caracterização do estado
1289 nutricional de goiabeiras em declínio parasitadas por *Meloidogyne enterolobii*.
1290 **Nematologia Brasileira**, v. 32, p. 154–160, 2008.
- 1291 GOMES, V. M.; SOUZA, R. M.; MUSSI-DIAS. V.; SILVEIRA, S. F. DOLINSKI, C.
1292 Declínio da goiabeira: doença complexa envolvendo *Meloidogyne enterolobii* e *Fusarium*
1293 *solani*. **Journal of Phytopathology**, v. 159, p. 45-50, 2011.
- 1294 GOMES. V. M. 2012. **Declínio da goiabeira (*Psidium guajava* L.): etiologia e**
1295 **caracterização da sua patogênese.** (Tese de Doutorado). Universidade Estadual do Norte
1296 Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes (RJ). 111 p.
- 1297 GONÇALVES, T. B.; SOUSA, E. O.; RODRIGUES, F. F. G.; COSTA, J. G. M. Chemical
1298 composition and antibacterial evaluation of the essential oil from *Cymbopogon winterianus*
1299 Jowitt (Gramineae). **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, Dehradun, v.13, n.4, p.426-
1300 431, 2010.
- 1301 GONÇALVES. C. G.; SARMENTO-BRUM. R. B. C.; SEIXAS. P. T. L.; CARDON. C.
1302 H.; SOUZA. E. R.; CASTRO. H. G.; SANTOS. G. R. Avaliação da atividade antifúngica
1303 de óleos essenciais sobre o crescimento de *Sclerotium rolfsii*. *Tropical Plant Pathology*. v.36
1304 (Suplemento). 2011. **XLIV Congresso Brasileiro de Fitopatologia - Bento Gonçalves**
1305 **RS.**
- 1306 GUIMARÃES, L. G. L., CARDOSO, M. G., SOUSA, P. E., ANDRADE, J., VIEIRA, S.
1307 S. Atividades antioxidante e fungitóxica do óleo essencial de capim-limão e do citral.
1308 **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 464-472, abr-jun, 2011.

- 1309 GUIMARÃES, L.M.P.. R.M. MOURA e E.M.R. PEDROSA. Parasitismo de *Medoidogyne*
1310 *mayaguensis* em diferentes espécies botânicas. **Nematologia Brasileira**. v. 27, p. 139-145,
1311 2003.
- 1312 GUIMARÃES, L. G. L.; Souza, P. E.; Cardoso, M. G.. 2007. Estudo do efeito fungitóxico
1313 do óleo essencial de Capim-limão (*Cymbopogon citratus*) sobre *Colletotrichum*
1314 *gloeosporioides*. **30a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Águas de
1315 Lindóia, Brasil, v.30, p.1.
- 1316 GUPTA, V. K.; MISRA, A. K.;GAUR, P. K.;JAIN, P. K.; GUAR, D.; SHARMA, S.
1317 current status of *Fusarium wilt* disease of guava (*Pysidium guajava* L.) in India.
1318 **Biotechnology**. v. 9, n 2, p. 176-196, 2010.
- 1319 HORI, M. Repellency of essential oils against the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne*
1320 (Fabricius) (Coleoptera: Anobiidae). **Appl. Entomol. Zool.**, v. 38, n. 4, p. 467-473, 2003.
- 1321 HUNT, D.J. E Z.A. HANDOO. Taxonomy, identification and principal species. In:
1322 PERRY, R.N., M. MOENS E J.L. STARR (ed) Root-Knot Nematodes. **CABI**,
1323 Wallingford, p. 55-97, 2009.
- 1324 **INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA (IBGE)**, 2010.
1325 Disponível em
1326 <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/default.shtm>>
1327 . Acesso em 21 de Dez. de 2012.
- 1328 **INTITUTO BRASILEIRO IBRAF**. 2012. Disponível
1329 em:<<http://www.ibraf.org.br/revista/revista.asp>>Acesso em: 26 de Nov. de 2012.
- 1330 IPEK, E.; ZEYTIÑOGLU, H.; OKAY, S.; TUYLU, B. A.; KURKCUOGLU, M.; HUSNU
1331 CAN BASER, K. Genotoxicity and antigenotoxicity of Origanum oil and carvacrol
1332 evaluated by Ames Salmolla/microsomal test. **Food Chemistry**, v. 93, p. 551-556, 2005.
- 1333 ITAKO et al. Controle de *Cladosporium fulvum* em tomateiro por extratos de plantas
1334 medicinais. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.76, n.1, p.75-83, 2009.
- 1335 JIANG, Y., WU, N., FU, Y. J., WANG, W., LUO, M., ZHAO, C. J., ZU Y. G., LIU X. L.
1336 **Environ. Toxicol.Pharmacol.**, v. 32, p. 63, 2011.

- 1337 KHAN, TA. HUSAIN SI. Relative resistance of six cowpea cultivars as affected by the
1338 concomitance of two nematodes and a fungus. **Nematologica Mediteranea**, v. 17, p. 39–
1339 41, 1989.
- 1340 KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO,
1341 L.E.A **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas.**; 4ª Ed.vol. 2, p. 479 –
1342 São Paulo: Agronômica Ceres, 2005.
- 1343 KOLLER, O. C. **Cultura da goiabeira.** Porto Alegre: Agropecuária, 1979. 44p.
- 1344 KONG, J., SANG-MYUNG, L.; YIL-SEONG, M.; LEE, S.; YOUNG-JOON, A.
1345 Nematicidal Activity of Plant Essential Oils against *Bursaphelenchus xylophilus*
1346 (Nematoda: Aphelenchoididae). **J. Asia-Pacific Entomol**, v. 9, n. 2, p. 173-178, 2006.
- 1347 KRITZINGER, Q.; AVELING, T. A. S.; MARASAS, W. F. O. Effect of essential plant
1348 oils on storage fungi, germination and emergence of cowpea seeds. **Seed Science and**
1349 **Technology**, Zürich, v.30, n.3, p.609-619, 2002.
- 1350 LABINAS, M.A.; CROCOMO, W.B. Effect of java grass (*Cymbopogon winterianus*)
1351 essential oil on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1979) (Lepidoptera,
1352 Noctuidae). **Acta Scientiarum**, Maringá, v.24, n.5, p.1401-1405, 2002.
- 1353 LEAL et al. Produção de biomassa e óleo essencial em plantas de capim-cidreira
1354 [*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf] em diferentes idades. **Revista Brasileira Plantas**
1355 **Medicinais**, v. 5, p. 61-64, 2003.
- 1356 LEITE, B.L.S.; SOUZA, T.T.; ANTONIOLLI,A.R.; GUIMARÃES, A.G.; SIGUEIRA,
1357 R.S.; QUINTANS, J.S.S.; BONJARDIM, L.R.; ALVES, P.B.; BLANK, A.F.; BOTELHO,
1358 M.A.; ALMEIDA, J.R.G.S.; LIMA, J.T.; ARAUJO, A.A.S.; QUINTANS-JÚNIOR, L.J.
1359 Volatile constituents and behavioral change induced by *Cymbopogon winterianus* leaf
1360 essential oil in rodents. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v.10, n.42, p.8312-
1361 8319, 2011.
- 1362 LESLIE, J.F, SUMMERELL, B.A., **The Fusarium laboratory – Blackuvell Publishing,**
1363 Oxford, UK; 2006.

- 1364 LIMA. I. M.; DOLINSKI. C. M.; SOUZA. R.M. 2003. Dispersão de *Meloidogyne*
1365 *mayaguensis* em goiabais de São João da Barra (RJ) e relato de novos hospedeiros dentre
1366 plantas invasoras e cultivadas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA.
1367 XXIV. Petrolina. **Resumos**. p.139.
- 1368 LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas medicinais do Brasil: nativas e
1369 exóticas cultivadas. Nova Odessa: **Instituto Plantarum**, 2002. 512p.
- 1370 LORENZETTI, E. R. 2009. **Interação patógeno – hospedeiro no patossistema capim**
1371 **limão – ferrugem das folhas e avaliação de ingredientes ativos naturais no controle da**
1372 **doença**. (Dissertação de Mestrado). Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP.
1373 Campos Botucatu. 89 p.
- 1374 LORENZETTI et al. Bioatividade de óleos essenciais no controle de *Botrytis cinerea*
1375 isolado de morangueiro **Revista Brasileira Plantas Medicinai**s, Botucatu, v.13, especial,
1376 p.619-627, 2011.
- 1377 MAFFEI, M.; MUCCIARELLI, M. Essential oil yield in peppermint/soybean strip
1378 intercropping. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 84, n.3, p.229–240, 2003.
- 1379 MANICA. I.; ICUMA. I.M.; JUNQUEIRA. N.T.V.; SALVADOR. J.O.; MOREIRA. A.;
1380 MALAVOLTA. E. **Fruticultura tropical: goiaba**. Porto Alegre: Cinco Continentes. 373
1381 p., 2000.
- 1382 MARTIN. A. **Industrialização da goiaba**. **Boletim do Centro Tropical de Pesquisa de**
1383 **Alimentos**.Campinas. v. 12, p. 37-54, 1967.
- 1384 MARTINS et al. Efeito dos óleos essenciais de citronela, alecrim e erva-cidreira no
1385 controle *in vitro* de *Ralstonia solanacearum* em pimentão. **Tecnol. e Ciên. Agropec.**, João
1386 Pessoa, v.4, n.1, p.09-13, 2010.
- 1387 MEDICE, R., ALVES, E.; ASSIS, R. T.; JÚNIOR, R. G. M; LOPES, E. A. G. L. Óleos
1388 essenciais no controle da Ferrugem Asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd, e P. Syd.
1389 **Ciência agrotecnológica**, v. 31, n. 1, p. 83-90, 2007.

- 1390 MEDINA et al. **Goiaba: cultura. matéria-prima. processamento e aspectos**
1391 **econômicos**. Campinas: ITAL/Secretaria de Agricultura de São Paulo. 1991. 224 p. (Série
1392 Frutas Tropicais. 6).
- 1393 MENDES, M. A S.; SILVA. V. L.; DIANESE. J. C. I. **Fungos em Plantas no Brasil**.
1394 Embrapa-SPI/Embrapa-Cenargen, Brasília. 555 p., 1998.
- 1395 MICHEREFF. et al. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais –**
1396 Recife : UFRPE. Imprensa Universitária. 2005. 398 p.
- 1397 MITCHELL, T. C.; STAMFORD, T. L. M.; SOUZA, E. L.; LIMA, E. O.; CARMOS, E. S.
1398 *Origanum vulgare* L. essential oil as inhibitor of potentially toxigenic *Aspergillus*. **Ciência**
1399 **Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 3, p. 755-760, 2010.
- 1400 MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos
1401 essenciais. **Horticultura Brasileira**, v.27, p. 4050-4063, 2009.
- 1402 MOREIRA W. A.; HENRIQUES-NETO. D.; BARBOSA. F. R.; MOURA. A. O. PAULA.
1403 F. R. Desenvolvimento populacional de *Meloidogyne* spp. Em mudas de goiabeira
1404 estaqueadas e enxertadas tratadas com nematicidas. **Nematologia Brasileira**, v. 25, n. 1, p.
1405 125-126, 2001.
- 1406 MOREIRA et al. Eclosao e mortalidade de juvenis J2 de *Meloidogyne incognita* raza 2 em
1407 oleos essenciais. **Revista Ciencias Agronomicas**.. Fortaleza. v. 40. n. 3. p. 441-448. 2009.
- 1408 MOURA, R. M. E MOURA, A. M. Meloidogynose da Goiabeira: Doença de alta
1409 severidade no estado de Pernambuco, Brasil. **Nematologia Brasileira**, v. 13, p. 13-19,
1410 1989.
- 1411 MOURA et al. Estudo de interação *Meloidogyne-Fusarium* em tomateiro portador do gene
1412 MI em condições de temperaturas altas do solo. **Nematologia Brasileira**, v. 25, n. 2, p.
1413 229-233, 2001.
- 1414 NASCIMENTO et al. Efeito do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum*C.
1415 DC) e do emulsificante Tween 80 sobre o crescimento micelial de *Alternaria alternata*
1416 (Fungi: Hyphomycetes). **Acta Amazonica**, v. 38, n. 3, p. 503-508, 2008.

- 1417 NEVES, W.S., FREITAS, L.G., GIARETTA-DALLEMOLE, R.D., FABRY, C.F.S.,
1418 COUTINHO, M.M., DHINGRA, O.D., FERRAZ, S. E DEMUNER, A.J. Atividade de
1419 Extratos de Alho (*Allium sativum*), Mostarda (*Brassica campestris*), e Pimenta Malagueta
1420 (*Capsicum frutescens*) Sobre a Eclosão de Juvenis de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia**
1421 **Brasileira**, v. 29, p. 273-278, 2005.
- 1422 NEVES et al. Ação Nematicida de Óleo, Extratos Vegetais e de Dois Produtos à Base de
1423 Capsaicina, Capsainóides e Alil Isotiocianato sobre Juvenis de *Meloidogyne javanica*
1424 (Treb.) Chitwood. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 93-100, 2008.
- 1425 NUMPAQUE et al. Thymol and carvacrol: biotransformation and antifungal activity
1426 against the plant pathogenic fungi *Colletotrichum acutatum* and *Botryodiplodia*
1427 *theobromae*. **Trop. plant pathol.**, v. 36, n. 1, p. 3-13, 2011.
- 1428 OKA. et al. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-
1429 knot nematode. **Nematology**. v. 90, n. 07, p. 710-715, 2000.
- 1430 OKOH, O. O., Sadimenko AP, Afolayan AJ. Comparative evaluation of the antibacterial
1431 activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and
1432 solvent free microwave extraction methods. **Food Chem**. v. 120, p. 308-312, 2010.
- 1433 OLIVEIRA, M. M. M. et al. Disinfectant action of *Cymbopogon* sp. essential oils in
1434 different phases of biofilm formation by *Listeria monocytogenes* on stainless steel surface.
1435 **Food Control**, v. 21, n. 04, p.549-553, 2010.
- 1436 OLIVEIRA, M. M. M.; BRUGNERA, D. F.; CARDOSO, M. G.; GUIMARÃES, L. G. L.;
1437 PICCOLI, R. H. Rendimento, composição química e atividade antilisterial de óleos
1438 essenciais de espécies de *Cymbopogon*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**,
1439 Botucatu, v.13, n.1, p. 8-16, 2011.
- 1440 OOTANI, M. A.; AGUIAR, R. W. S.; MELLO, A. V.; DIDONET, J.; PORTELLA, A. C.
1441 F.; NASCIMENTO, I. R. Toxicidade de óleos essenciais de eucalipto e citronela sobre
1442 *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Bioscience Journal**,
1443 Uberlândia, v. 27, n. 4, p. 609-618, 2011.

- 1444 OUSSALAH, M.; CAILLET, S.; SAUCIER, L.; LACROIX, M. Inhibitory effects of
1445 selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* 0157:H7,
1446 *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*. **Food**
1447 **Control**, 2006.
- 1448 PALMATEER. A. J.; LAWRENCE, K. S.; VAN SANTEN, E.; MORGAN-JONES, G.
1449 Interaction of *Rotylenchulus reniformis* with seedling disease pathogens of cotton.
1450 **Journal of Nematology**, v. 36, p. 160-166, 2004.
- 1451 PANDEY et al. Essential oils as potent sources of nematocidal compounds. **Journal of**
1452 **Phitopathology**. v. 148. n. 7-8. p. 501-502. 2000.
- 1453 PATTNAIK, S.; SUBRAMANYAN, V. R.; KOLE, C. R. Antibacterial and antifungal
1454 activity of ten essential oils in vitro, **Microbios**, San Francisco, v. 86, n.1, p. 237-246,
1455 1996.
- 1456 PAULA, L. A.; BIANCHI, V. J.; GOMES, C. B.; FACHINELLO, J. C. Reação de porta-
1457 enxertos de pessegueiro à *Meloidogyne incognita*. **Revista Brasileira de Fruticultura**,
1458 v.33. n.2. p. 680-684. 2011.
- 1459 PEREIRA. F. M. **Cultura da goiabeira**. Jaboticabal: Funep. 1995.
- 1460 PEREIRA. M. C.; VILELA. G. R.; COSTA. L. M. A. S.; SILVA. R. F.; FERNANDES. A.
1461 F.; FONSECA. E. W. N.; PICCOLI. R. H. Inibição do desenvolvimento fúngico através da
1462 utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras. v. 30, n.
1463 4, p.731-738, 2006.
- 1464 PEREIRA, A. J.; AGUIAR, L. G.; SILVA, D. G.; VIVAS, M.; SILVEIRA, S. F. 2007.
1465 Inibição *in vitro* do crescimento micelial de *Colletotrichum musae* e *Colletotrichum*
1466 *gloeosporioides* por óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf e *Eucalyptus*
1467 *citriodora* Hooker. **XL Congresso Brasileiro de Fitopatologia**. Maringá, Brasil, v.32,
1468 p.185.
- 1469 PEREIRA et al. Caracterização Química e Efeito inibitório de Óleos Essenciais sobre O
1470 Crescimento de *Staphylococcus aureus* de e *Escherichia coli* . **Cienc. Agrotec.**, v. 32, n. 3,
1471 p 887-893, 2008.

- 1472 PEREIRA, F. M.; SOUZA, R. M.; SOUZA, P. M.; DOLINSKI, C.; SANTOS, G. K.
1473 Estimativa do impacto econômico e social direto de *Meloidogyne mayaguensis* na cultura
1474 da goiaba no Brasil. **Nematologia Brasileira**, v. 33, p.176–181, 2009.
- 1475 PEREIRA, J. L. 2010. **Composição química dos óleos essenciais de espécies de**
1476 **Eucalyptos L' Herit (Myrtaceae)**. (Dissertação de Mestrado). Federal de Viçosa. Viçosa
1477 (MG). 69 p.
- 1478 PEREIRA, R. B.; LUCAS, G. C.; PERINA, F. J.; RESENDE, M. L. V.; ALVES, E.
1479 Potential of essential oils for the control of brown eye spot in coffee plants. **Ciência e**
1480 **Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 1, p. 115-123, 2011.
- 1481 PÉREZ, M. P.; NAVAS-CORTÉS, J. A.; PASCUAL-VILLALOBOS, M. J.; CASTILLO,
1482 P. Nematicidal activity of essential oils and organic amendments from Asteraceae against
1483 root-knot nematodes. **Plant Pathology**, v. 52, n. 3, p.395-401, 2003.
- 1484 PINTO, F. A. M.; REIS, R. M.; MARTINS-MAIA, F. G.; DIAS, I. E.; ARMESTO, C.;
1485 ABREU, M. S. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum*
1486 *gloeosporioides*, isolados de frutos de mangueira. **Tropical Plant Pathology**. Lavras, MG,
1487 v. 40, n. 12, p. 213-220, 2010.
- 1488 PIRES, A. M. M; MATTIAZZO. M. E **Avaliação da Viabilidade fazer Uso de Resíduos**
1489 **na Agricultura**. 2008. 8p. (Circular Técnica 19).
- 1490 QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; SOUZA, T. T.; LEITE, B. S.; LESSA, N. M. N.;
1491 BONJARDIM, L. R.; SANTOS, M. R. V.; ALVES, P. B.; BLANK, A. F.; ANTONIOLLI,
1492 A. R. Phytochemical screening and anticonvulsant activity of *Cymbopogon winterianus*
1493 Jowitt (Poaceae) leaf essential oil in rodents. **Phytomedicine**, Stuttgart, v.15, n.8, p.619-
1494 624, 2008.
- 1495 R DEVELOPMENT CORE TEAM (2011). **R: A Language and Environment for**
1496 **Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- 1497 RASOOLI, I.; REZAEI, M. B.; ALLAMEH, A. Growth inhibition and morphological
1498 alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus*
1499 *xporlock*. **Food Control**, v. 17, p. 359-364, 2006.

- 1500 RICHARDSON, M. J. **An Annotated List of Seed-Borne Diseases**. Fourth Edition.
1501 International Seed Testing Association, Zurich, 387 p. 1990.
- 1502 ROMAGNOLI, C.; BRUNI, R.; ANDREOTTI, E.; RAI, M. K.; VICENTINI, C. B.;
1503 MARES, D. Chemical characterization and antifungal activity of essential oil of capitula
1504 from wild Indian *Tagetes patula* L. **Protoplasma**, v. 225, p. 57–65, 2005.
- 1505 ROMERO et al. Chemical Composition and Activity of *Origanum vulgare* Essential Oil
1506 against Phytopathogenic Fungi. **Cient Ciênc Biol Saúde**; v. 14, n.4, p. 231-245, 2012.
- 1507 ROZANE. D. E.. V. BRUGNARA. H. A. SOUZA e D. A. AMORIM. **Condução**
1508 **arquitetura e poda da goiabeira para ‘mesa’ e/ou ‘indústria’**. In: NATALE. W.. D.E.
1509 ROZANE. H.A. SOUZA e D.A. AMORIM. (ed). Cultura da Goiabeira do Plantio a
1510 Comercialização.F C AV - U N E S P . C A P E S . C N P q . F A P E S P . FUNDUNESP e
1511 SBF. Jaboticabal (SP). p. 407-428, 2009.
- 1512 SALGADO et al. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de
1513 *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana*. **Ciências**
1514 **Agrotécnicas.**, Lavras. v. 27, n. 2, p. 249-254, 2003.
- 1515 SANGWAN, N. K.; VERMA, K. K.; DHINDSA, K. S. Nematicidal activity of some
1516 essential plant oils. **Pesticide Science**, v. 28, p. 331-335, 1990.
- 1517 SANTOS. M. R. A.; LIMA. R. A.; FERNANDES. C. F.; SILVA. A. G.; FACUNDO. V.
1518 A. Antifungal activity of *Piper marginatum* L. (Piperaceae) essential oil on *in*
1519 *vitro* *Fusarium oxysporum* (SCHLECHT). **Revista Saúde e Pesquisa. Maringá**. v. 4. n. 1.
1520 p. 09-14. 2011.
- 1521 SARTORATTO. A.; MACHADO. A. L. M.; DELARMELINA. C.; FIGUEIRA.M. G.;
1522 DUARTE. M. C. T.; REHDER. V. L. G. Composition and antimicrobial activity of
1523 essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**. v.
1524 35. p. 275-280. 2004.
- 1525 SCHERER et al. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos
1526 essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. **Revista Brasileira Plantas**
1527 **Medicinais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 442-449, 2009.

- 1528 SCHUCK, V. J. A., et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Cymbopogon citratus*.
1529 **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n.1. 2001.
- 1530 SCHUHMACHER, A.; REICHLING, J.; SCHNITZLER, P. Virucidal effect of peppermint
1531 oil on the enveloped viruses herpes simplex virus type 1 and type 2 in vitro.
1532 **Phytomedicine**, München, v.10, n. 6-7, p.504–510, 2003.
- 1533 SEMEN. E.; HIZIROGLU. Production. Yield and Derivatives of Volatile Oils from
1534 Eastern Redcedar (*Jeniperus virginiana* L.). **American Journal Environmental Sciences**.
1535 v. 1, n. 2, p.133-138. 2005.
- 1536 SILVA, S. R. S., DEMUNER, A. J.; BARBOSA, L. C. A.; ANDRADE, N. J.;
1537 NASCIMENTO, E. A.; PINHEIRO, A. L. Análise de constituintes químicos e da atividade
1538 antimicrobiana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. **Revista Brasileira de**
1539 **Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.6, p.63-70, 2003.
- 1540 SILVA. G.S.; SOBRINHO. C.A.; PEREIRA. A.L.; SANTOS. J.M. Ocorrência de
1541 *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Estado do Piauí. **Nematologia Brasileira**. v.
1542 30, n. 3. p.307-309, 2006.
- 1543 SILVA. D. M. H.; BASTOS. C. N. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies
1544 de Piper sobre *Crinipellis pernicioso*. *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*.
1545 **Fitopatologia Brasileira**. v. 32. p. 143-5. 2007.
- 1546 SILVA. Gilson Soares da e PEREIRA. Aurenice Lucena. Efeito da Incorporação de Folhas
1547 de Nim ao Solo sobre o Complexo *Fusarium* x *Meloidogyne* do Quiabeiro. **Summa**
1548 **Fitopatologia**, v.34, n. 4, p 368-370, 2008.
- 1549 SILVA et al. Efeito in vitro de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum*
1550 *gloeosporioides* Penz. isolado do maracujazeiro. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 33, Edição
1551 Especial, p. 1853 -1860, 2009.
- 1552 SILVA, et al. Composição química, atividade antibacteriana in vitro e toxicidade em
1553 *Artemia salina* do óleo essencial das inflorescências de *Ocimum gratissimum* L.,
1554 Lamiaceae. **Rev. bras. farmacogn.**, vol.20, n.5, p. 700-705. 2010.

- 1555 SILVA et al. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o crescimento in vitro de
1556 fitopatógenos. **Revista Verde** (Mossoró – RN – Brasil) v.7, n.1, p. 80 – 86, 2012.
- 1557 SIMÕES, C.M.O.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 6
1558 ed. Porto Alegre: UFRGS, 2010. 1104p.
- 1559 SINGH et al. A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of
1560 cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. **Food and Chemical**
1561 **Toxicology**, v. 45, n. 09, p. 1650-1661, 2007.
- 1562 SNOUSSI et al. In-vitro anti-Vibrio spp. activity and chemical composition of some
1563 Tunisian aromatic plants. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, n.
1564 12, p. 3071-6, 2008.
- 1565 SOUSA JUNIOR, I. T. S.; SALES, N. L. P; MARTINS, E. R. Efeito fungitóxico de óleos
1566 essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo.
1567 **Revista Biotemas** . Florianópolis, SC, v. 22, n.3, p.77-83, 2009.
- 1568 SOUSA, R. M. S; SERRA, I. M. R. S; MELO, T. A. Efeito de óleos essenciais como
1569 alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, em pimenta. **Summa**
1570 **Phytopathologica**, v.38, n.1, p.42-47, 2012.
- 1571 SOUZA, D. C.; LOURENÇO, S. A.; BASSETTO, E.; AMORIM, L. Progresso temporal
1572 da podridão parda do pessegueiro em áreas não tratadas e tratadas com fungicidas.
1573 (Resumo) **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.32 (suplemento), p.32, 2005.
- 1574 SOYLU, E. M.; KURT, S.; SOYLU, S. In vitro and in vivo antifungal activities of the
1575 essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*.
1576 **International Journal of Food Microbiology**, v. 143, p. 183-189, 2010.
- 1577 STOLF. E.C. **Efeito de fungos endofíticos sobre o desenvolvimento de nematoides da**
1578 **bananeira (Musa spp.)**. Florianópolis. 2006. Disponível em:
1579 <[http://www.cca.ufsc.br/Projetos/Elaine %20Cristina%20Stolf%202005-2.pdf](http://www.cca.ufsc.br/Projetos/Elaine%20Cristina%20Stolf%202005-2.pdf)>. Acesso
1580 em: 14 mai. de 2012.

- 1581 TORRES, G. R. C.; MEDEIROS, H. A.; SALES-JUNIOR, R.; MOURA, R. M.,
1582 *Meloidogyne mayaguensis*: Novos assinalamentos no Rio Grande do Norte associados a
1583 goiabeira. **Revista Caatinga**, v. 20, n.2, p.106-112, 2007..
- 1584 WHITTAKER, R.W. e FEENY, P.P. Allelochemicals: chemical interactions between
1585 species. –**Science**, v. 171, p. 757-769, 1971.
- 1586 WITTERS, P. R. et al. Estudo das variáveis de processo na extração de óleos essenciais de
1587 capim citronela, capim limão, carqueja e manjerona por hidrodestilação e por arraste a
1588 vapor. **II Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais**, IAC, Campinas, SP, 2003.
- 1589 ZACARONI. L. M.; CARDOSO. M. G.; SOUZA. P. E.; PIMENTEL. F. A.;
1590 GUIMARÃES. L. G. L.; SALGADO. A. P. S. P. Potencial fungitóxico do óleo essencial
1591 de *Piper hispidinervum* (pimenta longa) sobre os fungos fitopatogênicos *Bipolaris*
1592 *sorokiniana*. *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Amazônica**.
1593 Manaus, v. 39, n.1, p.193-198, 2009.