

Universidade Camilo Castelo Branco

Campus de Fernandópolis

KELYS RAMOS

ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DE *Colletotrichum gloeosporioides*

ESSENTIAL OILS IN CONTROL OF *Colletotrichum gloeosporioides*

Fernandópolis, SP

2014

KELYS RAMOS

ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DE *Colletotrichum gloeosporioides*

Orientador: Prof. Dr. Roberto Andreani Junior

Co-orientadora: Profa. Dra Dora Inés Kozusny-Andreani

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, da Universidade Camilo Castelo Branco, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Fernandópolis, SP

2014

Ficha Catalográfica

RAMOS, Kelys

R141O Óleos Essenciais no Controle de *Colletotrichum Gloeosporioides*
/ Kely Ramos - São José dos Campos: SP / UNICASTELO, 2014.

52f. il.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Andreani Junior

Co – Orientadora: Profa. Dra. Dora Inés kozusny-Andreani

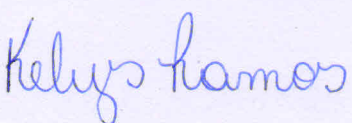
Dissertação de Mestrado apresentada no Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Camilo Castelo Branco, para complementação dos créditos para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

1. Antracnose. 2. Frutíferas. 3. Antifúngicos. 4 Plantas Medicinais.

I. Título

CDD: 574

Autorizo, exclusivamente, para fins acadêmicos e Científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação (tese), por processos xerográficos ou eletrônicos.

Assinatura do aluno: 

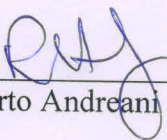
Data: 02/04/2015.

TERMO DE APROVAÇÃO

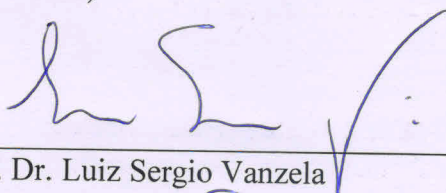
KELYS RAMOS

ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DE *Colletotrichum Gloeosporioides*

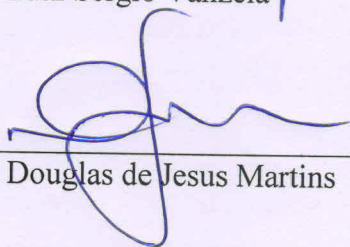
Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Camilo Castelo Branco, pela seguinte banca examinadora:



Prof. Dr. Roberto Andreani Junior
(Presidente)

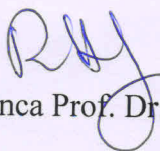


Prof. Dr. Luiz Sergio Vanzela



Prof. Dr. Douglas de Jesus Martins

Fernandópolis - SP, 29 de outubro de 2014.


Presidente da Banca Prof. Dr. Roberto Andreani Junior

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho à Deus, aos meus pais: Eizeu Ramos e Maria de Jesus Ferro Ramos pelo amor, carinho e por sempre incentivar no meu aprendizado e acreditar no meu trabalho e aos meus irmãos Geder Ramos (in memória) e Edimar Ramos, que mesmo longe sempre me apoiou.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e a inúmeras pessoas que me ajudaram para a conclusão desse trabalho: Meu **pai Elizeu** e principalmente a minha **mãe Maria**, que sempre esteve ao meu lado, me apoiando e incentivando, e aos meus **irmãos Edimar Ramos** e **Geder Ramos** (in memória).

Aos meus amigos, no qual me apoiaram em diversos momentos de alegria e tristeza durante toda essa caminhada.

A amiga **Cristiane Mazuchi** que sempre esteve ao meu lado, me ajudando e dando sugestões.

Ao **Prof. Dr. Luiz Sergio Vanzela** e o **Prof. Dr. Douglas de Jesus Martins** pela disponibilidade e atenção.

E especialmente ao meu querido orientador **Prof. Dr. Roberto Andreani Junior** e Co-orientadora **Profa. Dra. Dora Inés Kozusny-Andreani** pela atenção, orientação, paciência, disponibilidade e conclusão do trabalho.

ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DE *Colletotrichum gloeosporioides*

RESUMO

A antracnose é causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, que é o maior responsável por doenças na fase de pós-colheita em frutos. Óleos essenciais e extratos aquosos obtidos de espécies vegetais tem se mostrado eficazes, no controle de doenças pós-colheita como a antracnose em frutíferas, devido a ação fungitóxica. Assim o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito inibitório de óleos essenciais no controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da antracnose em pós-colheita de frutíferas. Treze óleos essenciais foram utilizados em concentrações de 0,00%, 0,40%, 0,80%, 1,70%, 3,20%, 6,25%, 12,50%, 25,00%, 50,00% e 100,00%, e uma linhagem padrão de *Colletotrichum gloeosporioides*, para avaliar a concentração inibitória mínima e a concentração mínima fungicida a fim de caracterizar o potencial de cada um dos óleos essenciais avaliados. Para reduzir a carga microbiana para valores nulos, as contagens microbianas foram analisadas de acordo com suas respectivas variações percentuais em cada período avaliado. A maior eficácia foi proporcionada com os óleos de melaleuca (-99,2%), copaíba (-99,4%), capim limão (-98,7%) e nim (-99,9%), sendo que os mesmos apresentaram maiores reduções da contagem microbiana. Para melaleuca, copaíba e capim limão foram necessários 40 minutos de exposição para eliminar a carga microbiana, enquanto que para o óleo de nim foram necessários somente 30 minutos de exposição para obter o mesmo efeito. Os óleos essenciais de hortelã (-71,2%) e cravo da índia (-77,8%) foram os que apresentaram menor variação percentual, sendo 90 minutos para hortelã e 100 minutos para cravo da índia para anular a carga microbiana. Pode-se concluir que o efeito antifúngico dos óleos essenciais, para controle *Colletotrichum gloeosporioides*, depende da planta e da concentração empregada.

Palavras-chave: antracnose, frutíferas, antifúngicos, plantas medicinais.

ESSENTIAL OILS IN CONTROL OF *Colletotrichum gloeosporioides*

ABSTRACT

Anthrachnose is caused by the fungus *Colletotrichum gloeosporioides* which is the largest responsible for disease in post-harvest fruit. Both essential oils and aqueous extracts obtained from plant species have proven effective in controlling post-harvest diseases such as anthracnose fruit due to fungitoxic action. The aim of this study was to evaluate the inhibitory effect of essential oils on in vitro control of *Colletotrichum gloeosporioides*, causal agent of anthracnose in post-harvest fruit. Thirteen essential oils were used in concentrations of 0,00%, 0,40%, 0,80%, 1,70%, 3,20%, 6,25%, 12,50%, 25,00%, 50, 00% and 100,00%, and a standard line of *Colletotrichum gloeosporioides* to assess the minimum inhibitory concentration and minimum fungicidal concentration to characterize the potential of each of the essential oils tested. To reduce the microbial load for null values, microbial counts were analyzed according to their respective percentage changes in each period that was evaluated. The greatest efficacy was provided with tea tree oil (-99.2%), copal (-99.4%), lemon grass (-98.7%) and neem (-99.9%), however they showed greater reductions in microbial counts. The melaleuca, lemon grass and copal required 40 minutes of exposure to eliminate the microbial load, while for the neem oil was necessary only 30 minutes to get the same effect. The essential oils of mint (-71.2%) and cloves (-77.8%) presented the smallest percentage change, being 90 minutes to mint and 100 minutes to cloves to cancel the microbial load. We can conclude that the antifungal effect of essential oils to control *Colletotrichum gloeosporioides* depends on the plant and the concentration employed.

Keywords: anthracnose, fruit plants, antifungal, medicinal plants.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Comportamento da contagem microbiana de acordo com as concentrações avaliadas.	29
Figura 2. Comportamento da contagem microbiana a partir da concentração de 6,25% de óleo essencial.	30
Figura 3. Variação percentual da contagem microbiana em relação aos óleos essenciais estudados.	32
Figura 4. Comportamento da variação percentual da contagem microbiana em relação aos óleos essenciais mais eficazes.	33
Figura 5. Comportamento da variação percentual da contagem microbiana em relação aos óleos essenciais menos eficazes.	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Médias da contagem microbiana para cada uma das concentrações avaliadas.	28
Tabela 2. Estatísticas descritivas da variação percentual (%) da contagem microbiana em relação aos óleos essenciais avaliados.....	31

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1. Objetivos gerais	13
1.2. Objetivos específicos	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1. O fungo <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	15
2.2. Utilização de extratos ou óleos de plantas no combate a micro-organismos.....	16
2.3. Uso de extratos de plantas ou óleos no combate ao fungo da antracnose.....	20
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1. Óleos essenciais	24
3.2. Linhagem e preparação do inóculo	24
3.3 Determinação da concentração inibitória mínima	25
3.4 Determinação da concentração fungicida mínima.....	25
3.5. Avaliação dos resultados.....	26
4. RESULTADOS	27
5. DISCUSSÃO	35
6. CONCLUSÕES	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

1. INTRODUÇÃO

A principal preocupação dos produtores na produção de frutas, está relacionada com a manifestação de doenças na fase de pós-colheita, entre elas, a antracnose, que é causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. (SILVA *et al.*, 2009a).

Este fungo é o maior responsável por doenças de pós-colheita em frutos. O patógeno pode infectar desde os frutos maduros, até os frutos imaturos pela penetração direta da cutícula. A temperatura e a umidade relativa contribuem de forma favorável para o desenvolvimento deste fungo (TAVARES; SOUZA, 2005), acarretando diversos prejuízos relacionados ao cultivo da fruticultura, principalmente nos períodos mais quentes e chuvosos, originando a antracnose que propicia uma intensa desfolha, seca de ramos e a decomposição de frutos (SILVA *et al.*, 2009b).

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

Esses gêneros são diferenciados de acordo com os caracteres morfológicos e culturais, como a morfologia de conídios, o surgimento de pigmentos, diferenciação da coloração de colônias e nível de crescimento. A dificuldade encontrada na identificação dessas espécies, está relacionada a grande variedade fenotípica, e na interferência de fatores ambientais (ANDRADE *et al.*, 2007).

As doenças de pós-colheita tem sua origem ainda no campo, durante a fase de produção dos frutos, período em que seu inóculo fica atribuído ao fruto até a última etapa da pós-colheita. A podridão peduncular pode ser atribuída aos conídios existentes no meio peduncular, podendo ser penetrados durante o período da colheita, pela lesão tecidual acarretada pela quebra do pedúnculo, ou através de infecções quiescentes, onde o patógeno tem seu desenvolvimento inibido pelo hospedeiro até o princípio da maturação do fruto (NERY-SILVA *et al.*, 2007b).

No caso de frutíferas, a doença responsável por maiores danos é a antracnose, cujo, o agente causal, é o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, que é caracterizada por grandes

lesões, de formas arredondadas, necróticas, contendo tecidos deprimidos ao centro, onde são produzidas massas de conídios com coloração alaranjada, proporcionando aos frutos uma podridão-mole (SILVA *et al.*, 2006a).

A antracnose é a doença de pós-colheita de maior ocorrência nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, podendo atingir frutas como o mamão (*Carica papaya* L.), a manga (*Mangifera indica* L.), a banana (*Musa* spp.), o caju (*Anacardium occidentale* L.), o maracujá (*Passiflora edulis* Sims) (LIMA FILHO; OLIVEIRA; MENEZES, 2003a) e a goiaba (*Psidium guajava* L.), entre outras (SILVA *et al.*, 2006b).

As perdas de pós-colheita em frutos, em muitos casos são superiores a 50%, antes de chegar à mesa do consumidor, e os que chegam, nem sempre apresentam a qualidade desejada (TAVARES, 2004).

Dentre as diversas frutíferas tropicais a mais atingida pela antracnose é o mamão, pois seus sintomas aparecem durante ou após o transporte dos frutos ao mercado e ao consumidor final (LIMA FILHO; OLIVEIRA; MENEZES, 2003b) podendo suas perdas, em alguns casos chegarem até 75%, associadas a efeitos químicos, mecânicos e aos agentes microbianos (DANTAS *et al.*, 2004).

O controle químico com fungicidas aplicado como medida isolada, não atua de forma satisfatória na redução das perdas provocadas pela antracnose (PERUCH *et al.*, 2009), além do fato de que uso contínuo e intensivo de fungicidas interrompe o controle biológico natural, uma vez que organismos não alvo podem ser afetados e ainda, ocasiona problemas ambientais (SOYLU; KURT; SOYLU, 2010); surgimento de patógenos resistentes, ocasionando surtos de doenças (LEE *et al.*, 2008) e elevam o custo de produção sendo o seu uso inviável para alguns agricultores (SILVA *et al.*, 2009c). Estes problemas a saúde humana e ao meio ambiente causados pelo uso indiscriminado de defensivos agrícolas tem levado a uma consequente busca por produtos e tecnologia alternativa de controle em pós-colheita que seja capaz de reduzir o uso desses compostos químicos na produção de alimentos (SILVA *et al.*, 2010; FELIPINI & DI PIERO, 2009).

Entre os meios alternativos que podem ser adotados por produtores de frutíferas, a busca de plantas dotadas de compostos capazes de substituir os atuais produtos químicos é uma alternativa bastante promissora de grande importância econômica e ecológica. A natureza pode apresentar uma variedade de plantas que possam ser resistentes a diversos

patógenos, incluindo substâncias com características fungicidas (VENTUROSIO *et al.*, 2010a).

Estudos vem sendo realizados para se obter meios alternativos para o controle de pragas e doenças que atualmente acometem o cultivo destas frutíferas. Esses estudos são importantes para a obtenção e identificação de novos compostos a partir de plantas nativas ou medicinais, que podem apresentar propriedades antimicrobianas, atuando diretamente sobre o patógeno; estimuladores de resistência, induzindo o mecanismo de defesa da planta e como bioestimulantes, proporcionando o crescimento da planta (SILVA *et al.*, 2009d).

A indução de resistência às doenças em plantas são estimuladas pela ativação de agentes bióticos ou abióticos, que induzem ou ativam o mecanismo de defesa de plantas contra os patógenos existentes (NASCIMENTO; NERY; RODRIGUES, 2008).

Estudos realizados com óleos essenciais e extratos aquosos obtidos de espécies vegetais tem se mostrado eficazes, no controle de doenças pós-colheita como a antracnose em frutíferas, devido à ação fungitóxica. Dentre estas espécies se encontra o eucalipto (*Eucalyptus citriodora* Hooker M.) (VENTUROSIO *et al.*, 2010b), a andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.), o coco (*Cocos nucifera* L.), as sementes de uva (*Vitis vinifera* L.), a amêndoa (*Prunus amygdalus* Batsch), o hortelã (*Mentha* sp) (SOUSA; SOUZA SERRA & MELO, 2012a), o capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf.), e a menta (*Mentha piperita* L.) (CARNELOSSI *et al.*, 2009a).

1.1. Objetivos gerais

O presente trabalho tem como objetivo geral avaliar o efeito inibitório de óleos essenciais no controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da antracnose em pós-colheita de frutíferas.

1.2. Objetivos específicos

O objetivo específico do estudo é observar a ação antimicrobiana de óleos essenciais a fim de se verificar o óleo essencial mais eficaz no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*. Treze óleos essenciais foram utilizados: hortelã, melaleuca, limão, copaíba, eucalipto, gengibre,

manjeriçao, coco, capim limao, cravo da india, canela, citronela e nim em concentrações que variaram de 0,00 a 100,00%, sendo elas: 0,00%, 0,40%, 0,80%, 1,70%, 3,20%, 6,25%, 12,50%, 25,00%, 50,00% e 100,00%.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O fungo *Colletotrichum gloeosporioides*

O fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, é o agente causal da antracnose responsável por infectar cerca de 1000 espécies de plantas, ocasionando limitações na produção de inúmeras frutas e hortaliças nas regiões tropicais e subtropicais. Dentre as inúmeras espécies atingidas pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.), se encontram o mamoeiro (*Carica papaya* L.), o abacateiro (*Persea americana* Mill.), a fruta-do-conde (*Annona squamosa* L.) (BONETT *et al.*, 2011), a manga (*Mangifera indica* L.) (FISCHER *et al.*, 2009), o maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) (FISCHER *et al.*, 2007), a pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth) (MAFACIOLI *et al.*, 2006), apimentada (*Capsicum* spp.), o jiló (*Solanum gilo*) e o pimentão (*Capsicum annuum*).

Em frutos, os sintomas da antracnose apresentam diâmetros variáveis com presença de esporos e massa alaranjada. A alta umidade aliada ao clima quente causam prejuízos aos comerciantes e consumidores. Essa infecção pode chegar a 100% se não for realizado um controle adequado (JÚNIOR; MELLO, 2006). Nas anonáceas, a antracnose também conhecida por “podridão-negra” é a doença de maior importância. Sua incidência ocorre desde as folhas até os frutos, acarretando perdas que variam entre 53% a 70% dos frutos (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 2014). A antracnose acarreta prejuízos à produção de frutíferas como a pinha (*Annona squamosa* L.) e a graviola (*Annona muricata* L.), que atualmente vem obtendo grande importância econômica em diversas regiões do mundo, incluindo o Brasil (KAMEI *et al.*, 2014).

Tem maior incidência na maturação, porém os frutos podem ser infectados ainda no campo, onde essa infecção pode permanecer quiescente até o início da maturação dos frutos. A doença pode ser classificada de duas formas, antracnose latente tendo como origem a infecção quiescente e a não latente onde o patógeno invade os frutos ainda verdes por meio dos ferimentos durante o transporte (PINHO *et al.*, 2010). É caracterizada por manchas que ocasionam podridão aos frutos, e este dano pode provocar a desintegração e decomposição dos tecidos (ROZWALKA *et al.*, 2008a).

2.2. Utilização de extratos ou óleos de plantas no combate a micro-organismos

Problemas relacionados ao uso indiscriminado de defensivos agrícolas industrializados faz com que os patógenos de plantas se tornem cada vez mais resistentes a estes defensivos, culminando com o aumento da quantidade utilizada pelos produtores através da poluição da água e do ar e a contaminação dos alimentos que pode vir acarretar danos aos animais e ao homem (SILVA *et al.*, 2008a). Devido aos problemas relacionados á poluição do meio ambiente e aos efeitos tóxicos destes produtos químicos que afeta organismos não alvo, fez surgir à necessidade de pesquisas relacionadas á potencialidade de defensivos de origem vegetal. Os óleos essenciais destacam-se dentre esses produtos, sendo vastamente testados no combate de fitopatógenos, por serem considerados de baixa toxicidade em mamíferos (SILVA; BASTOS, 2007).

A utilização de extratos de plantas medicinais no controle de fungos fitopatogênicos, vem obtendo sucesso devido às propriedades antifúngicas apresentada pela maioria dos extratos de plantas (SILVA *et al.*, 2008b), e devido a substâncias mais leves e voláteis encontradas no óleo essencial e sua baixa concentração de substâncias resinosas, que podem criar sobre o fruto uma película protetora (RIGAMONTE AZEVEDO; WADT; WADT, 2004). Sem essa película, causam alterações físico-químicas no fruto durante o período de maturação, já que o oxigênio encontra-se livre para atuar (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Substâncias presentes na composição dos óleos essenciais atuam na parede celular dos fungos, afetam a integridade das membranas celulares, causando o extravasamento do conteúdo celular, inibindo ou reduzindo o crescimento micelial (PEREIRA, 2011; AMARAL & BARA, 2005).

Os extratos ou óleos essenciais podem ter ação direta ou indireta sobre os patógenos inibindo assim o seu crescimento bacteriano (VIGO *et al.*, 2009).

A avaliação de extratos vegetais com atividade antifúngica e antibacteriana não é padronizada, pois sua técnica varia de acordo com o microrganismo, a cepa utilizada, o tempo de coleta, a origem da espécie, e se forem obtidos extratos de plantas secas ou frescas. No entanto, estas avaliações são realizadas em sua maioria por métodos de macrodiluição e microdiluição e difusão em ágar (OSTROSKY *et al.*, 2008).

Com o intuito de reduzir o uso de antioxidantes em alimentos relacionados à resistência de microrganismos, o emprego de óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*

(capim-citronela), *Cinnamomum zeylanicum* (canela) e *Zingiber officinale* (gengibre), foram avaliados para identificar suas propriedades antioxidantes e antibacterianas, obtendo como resultado ação antibacteriana contra bactérias Gram-negativas e para bactérias Gram-Positivas, com ressalva para a espécie *Escherichia coli* que se mostrou resistente aos óleos essenciais de *Cymbopogon nardus* e *Zingiber officinale* (ANDRADE *et al.*, 2012).

Dentre a vasta variedade de plantas com atividade antimicrobiana também se encontram as espécies: cravo (*Eugenia caryophyllata*), manjerona (*Origanum majorana* L.), manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), laranja (*Citrus aurantium* L.), limão (*Citrus aurantifolia*), alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), alho (*Allium sativum* L.) entre outras (SILVESTRI *et al.*, 2010).

No combate a flor preta, doença causada pelo fungo *Colletotrichum acutatum* Simmonds, considerada a principal responsável pelos danos acarretados ao morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.), o óleo de *Eucalyptus citriodora* (eucalipto), inibiu por completo o crescimento micelial de *Colletotrichum acutatum*, porém em campo não foi observado nenhum efeito significativo no controle deste fungo, sendo este eficiente apenas em conter o crescimento micelial e reduzir a incidência de doenças quando este foi aplicado nas flores (DIAS-ARIEIRA *et al.*, 2010).

Dentre os meios alternativos como óleos e essências vegetais com propriedades fungicidas, existe também a quitosana que apresenta uma boa ação fungicida contra uma variedade de patógenos que atinge frutas e hortaliças em pós-colheita. Em pós-colheita de banana prata de acordo com Negreiros *et al.* (2013), a quitosana reduziu a gravidade da antracnose em 63%, quando utilizada na concentração 0,25mg mL⁻¹. O óleo de alho retardou o aparecimento da doença, nos frutos aumentando para quatro dias o tempo de vida dos frutos na prateleira.

Óleos essenciais de plantas medicinais se mostram promissores no controle de fungos fitopatogênicos. Segundo Lustosa *et al.* (2011), destacam-se entre estas espécies de plantas com atividade fungitóxica, a copaíba, o capim-citronela, a andiroba, o eucalipto, o boldo, a pimenta de macaco e o cravo da índia.

Em estudos com pimenta Dedo de Moça (*Capsicum baccatum*) em pós-colheita foi constatado que a quitosana controlou a incidência da antracnose quando administrada de 48 a 72 horas antes da inserção do patógeno (GOMES; DE SOUZA SERRA, 2013).

Santurio *et al.* (2007), evidenciaram em seu estudo a atividade antibacteriana dos óleos essenciais de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), orégano (*Origanum vulgare*) e tomilho (*Thymus vulgaris*) em isolados de *Salmonella* entérica de origem avícola. Dentre os óleos essenciais estudados para esse fim, o óleo de orégano ressaltou uma elevada atividade bactericida, enquanto que os óleos de canela e tomilho apresentaram moderada atividade bactericida aos isolados de *Salmonella* entérica.

Em meio às especiarias utilizadas na eclosão e mortalidade de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro, foram avaliados *in vitro* os efeitos de diversos extratos vegetais e produtos naturais, onde neste estudo o extrato de canela foi o que apresentou maior efeito tóxico a *Meloidogyne exigua* (SALGADO; CAMPOS, 2003).

Moreira *et al.* (2008), avaliaram o efeito de extratos alcoólicos de citronela (*Cymbopogon nardus* Rendle), como compostos de defesa em sorgo e soja, assim como sua ação antifúngica contra o fungo *Colletotrichum lagenarium*, onde constataram que em relação a soja os extratos metanólicos e etanólicos de citronela não apresentaram nenhuma atividade antifúngica, nem proporcionou compostos de defesa sobre o fungo citado. Já em relação ao sorgo, este extrato apresentou mecanismos de indução de defesa ao fungo, sugerindo assim, estudos posteriores sobre o assunto.

Franzener *et al.* (2007), também avaliando o efeito antibacteriano e antifúngico sobre fitopatógenos em sorgo, com o intuito de encontrar meios alternativos no controle de doenças de plantas, utilizaram em seu estudo além do óleo essencial da *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle (citronela), os óleos das espécies: *Conyza canadensis* (L.) Cronquist (buva) e *Helietta apiculata* Benth (canela-de-veado). A citronela se destacou em relação aos óleos testados, apresentando já na concentração de 10% a indução de compostos de defesa ao sorgo, se destacando novamente em relação à inibição do crescimento bacteriano.

Também foi avaliada a atividade antifúngica do óleo essencial do capim-citronela na cultura do abacaxi, avaliando assim a inibição e o crescimento micelial do fungo *Fusarium subglutinans*, responsável por afetar esta cultura, onde Seixas *et al.* (2011), constataram a eficácia do tratamento com capim-citronela e citronelal, sobre o fungo *Fusarium subglutinans*, reduzindo *in vitro* a redução do crescimento micelial, onde nas concentrações de 15, 20 e 25µL o óleo essencial do capim-citronela inibiu em 100% o crescimento do fungo.

Estudando a ação antifúngica de extratos de plantas medicinais como: citronela (*Cymbopogon nardus*), graviola (*Annona muricata*), fruta do conde (*Annona squamosa*),

cravo de defunto (*Tagetes minuta*), romã (*Punica granatum*), arruda (*Ruta graveolens*) entre outras, incluindo o óleo de eucalipto, sobre o controle do dermatófito *Trichophyton mentagrophytes*, Frias e Kozusny-Andreani (2009), constataram a eficácia do óleo de eucalipto no combate ao *Trichophyton mentagrophytes* na concentração de 0,5%, enquanto que os extratos de eucalipto, citronela e romã nas concentrações de 5%, 4% e 8% respectivamente apresentaram efeito fungistático. Os outros extratos avaliados não apresentaram efeito sobre o fungo.

Mariath *et al.* (2006), estudaram e avaliaram o efeito antifúngico do óleo essencial de *Eugenia aromatica* B. (cravo-da-índia) contra fungos dermatíaceos, constatando por sua vez a ação inibitória de 100% sobre os fungos na concentração de até 2%.

Santos *et al.* (2011a), avaliando a atividade antimicrobiana *in vitro* dos óleos essenciais de limão, cravo, orégano e alho sobre diferentes micro-organismos como: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella choleraesuis*, obtiveram resultados satisfatórios, sendo que o óleo essencial de orégano apresentou maior ação inibidora comparado ao óleo de cravo, sobre as bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella choleraesuis*, já o óleo essencial de alho não foi eficaz sobre as cepas de *Escherichia coli* e o óleo essencial de limão se mostrou insatisfatório por não apresentar atividade bacteriana.

Alvarenga *et al.* (2007), assim como Santos *et al.* (2011b), também avaliaram o efeito de plantas medicinais sobre bactérias de importância como *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella choleraesuis*, *Shigella flexneri*, *Streptococcus mitis* e *Streptococcus mutans*, tendo utilizado em seus estudos os extratos aquosos de hortelã, orégano, alecrim, capim-limão, gengibre e sálvia, obtendo como resultado uma atividade inibitória de todas as plantas testadas com a formação de halo de inibição sobre *Shigella flexneri*.

Dal Pozzo *et al.* (2011), também avaliaram a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais sobre micro-organismos como a *Staphylococcus* spp., utilizando os óleos extraídos de *Zingiber officinale* (gengibre), *Origanum vulgare* (orégano), *Ocimum basilicum* (manjerição), *Rosmarinus officinalis* (alecrim), *Salvia officinalis* (sálvia), *Lippia graveolens* (lípia) e *Thymus vulgaris* (tomilho), onde também obtiveram resultados significativos, evidenciados pelos óleos de lípia, orégano e tomilho que apresentaram atividades antimicrobianas, sugerindo assim, estudos posteriores destes produtos.

Já Zago *et al.* (2009), realizaram estudos de plantas medicinais combinadas ao uso de drogas antimicrobianas, sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, sendo avaliadas as espécies: cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L. Myrtaceae), canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume Lauraceae), gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe Zingiberaceae), hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L. Lamiaceae), alecrim (*Rosmarinus officinalis* L. Lamiaceae) e capim-cidreira (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, Poaceae). O maior sinergismo entre as drogas testadas foi do óleo de capim cidreira que apresentou melhor resultado sobre *Staphylococcus aureus*, seguida pela hortelã e posteriormente pelo gengibre, e concluíram que estas interações são mais suscetíveis a *Staphylococcus aureus* que a *Escherichia coli*.

Estudos realizados por Packer e Luz (2007), com os óleos de melaleuca, alho, andiroba, copaíba, alecrim e outros sobre os microrganismos: *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichiacoli*, demonstraram que os óleos que apresentaram maior ação antifúngica e antimicrobiana sobre os microrganismos avaliados, foram os óleos de melaleuca e alecrim.

Oliveira *et al.* (2011), em sua revisão literária relatou que a utilização dos óleos essenciais também vem sendo empregados na área odontológica, como o óleo essencial TTO-tea tree oil, extraído do arbusto (*Melaleuca alternifolia*), que teve sua ação bactericida e antifúngica comprovada.

Martins *et al.* (2011), exploraram a atividade inibitória *in vitro* do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* também conhecido por “árvore de chá”, sobre os fungos *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Alternaria alternata*, constatando a inibição do crescimento micelial dos fungos estudados, sendo assim uma alternativa viável no controle destes patógenos de plantas.

2.3. Uso de extratos de plantas ou óleos no combate ao fungo da antracnose

Trabalhos realizados utilizando óleos essenciais no controle de doenças de pós-colheita apresentam bons resultados. De acordo com estudos realizados no combate a doenças na pós-colheita em maracujazeiro-amarelo, o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, se mostrou o mais resistente dentre os isolados testados, e seu desenvolvimento foi mais rápido em frutos maduros comparados aos frutos verdes. Porém, os óleos das plantas medicinais capim-santo (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf.), alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) e alfavaca-

cravo (*Ocimum gratissimum* L.), em concentrações específicas, se mostraram eficazes no controle do patógeno *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos (AQUINO *et al.*, 2012).

Segundo Celoto *et al.* (2008), os extratos também se mostram eficazes na inibição do crescimento micelial e na germinação de esporos de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) em isolado de mamão. Os extratos aquosos e hidroetanólicos de melão-de são-caetano e extrato hidroetanólico de eucalipto, tem uma inibição satisfatória do crescimento micelial, já os extratos aquosos de *Luffa acutangula*, *Eucalyptus citriodora* (eucalipto), *Chenopodium ambrosioides* (erva-de-santa-maria) e *Bauhinia forficata* (pata de vaca), e os extratos hidroetanólicos de *Ruta graveolens* (arruda), *Eucalyptus citriodora* (eucalipto), *Zingiber officinale* (gingibre) e *Chenopodium ambrosioides* (erva-de-santa-maria) apresentaram a inibição acima de 90% em relação a germinação de esporos de *Colletotrichum gloeosporioides*. Carnelossi *et al.* (2009b), também avaliaram os óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* (capim-limão), *Eucalyptus citriodora* (eucalipto), *Mentha arvensis* (menta) e *Artemisia dracunculus* (estragão) em frutos de mamão onde verificaram que estes também são potentes no controle do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, podendo ser sugerido como uma opção no controle da antracnose, reduzindo assim o uso de fungicidas convencionais.

Em pimenta de cheiro (*Capsicum chinense*) no período de pós-colheita Sousa, Serra e Melo (2012b) avaliaram “*in vitro*” os efeitos inibitórios dos óleos essenciais de semente de uva (*Vitis vinifera* L.), eucalipto (*Eucalyptus* spp), andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.), babaçu (*Orbignya phalerata*, Mart.), coco (*Cocos nucifera*), nim (*Azadirachta indica*), copaíba (*Copaifera langsdorffii*.), amêndoa (*Prunus amygdalus* Batsch), pau rosa (*Aniba rosaeodora*) e hortelã (*Mentha* sp), sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. Os autores constataram que os óleos de hortelã, pau rosa, nim e de copaíba inibiram em maior grau o crescimento do fungo nas concentrações (0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8% e 1,0%), já os óleos de andiroba, eucalipto e coco apresentaram capacidade de inibição em concentrações a partir de 1,0%, enquanto que os óleos de babaçu, semente de uva e amêndoa não diferiram de forma significativa.

De acordo com Botelho *et al.* (2009), o extrato de alho se mostrou eficaz em todas as doses testadas no controle da antracnose em videira, reduzindo de forma eficaz o crescimento micelial do fungo *Elsinoë ampelino* principal responsável pela antracnose em videiras. Já Silva, Botelho e Faria (2012a) avaliaram o efeito do extrato aquoso de cinamomo (*Melia*

azedarach L.) sobre *Elsinoe ampelina*, obtendo também um efeito satisfatório na inibição do crescimento micelial e na germinação do fungo. Em campo ocorreu à redução da gravidade da doença, sendo o seu controle atingido em torno de 50% sobre a antracnose em videiras.

Outras espécies com propriedades microbianas são do gênero *Piper* (*Piperaceae*). Bastos e Albuquerque (2004), observaram em suas pesquisas “*in vitro*”, o efeito fungitóxico do óleo de *Piper aduncum* sobre o fungo *Colletotrichum musae*, agente causal da antracnose em pós-colheita nos frutos de banana, onde obtiveram como resultado 100% de inibição no crescimento micelial e na germinação, reduzindo também a incidência e a gravidade da doença com relação a podridão de frutos, obtendo seu melhor desempenho com óleo em concentração a 1,0%, sendo seu controle parecido ao fungicida de origem química benomyl.

Junqueira *et al.* (2004), avaliaram os efeitos de extrato de sucupira e do óleo de soja no controle da antracnose em pós-colheita de manga. Foi observado um aumento do tempo de permanência da manga Palmer nas prateleiras, quando o óleo de soja isolado ou misturado com fungicida benomyl ou tiabendazol a 22°C ou 40°C se mostrou eficaz no combate a antracnose. Tais fungicidas sem o efeito do óleo de soja não foram eficazes com relação à conservação dos frutos. O extrato de sucupira (*Pterodon pubescens* Benth), também se mostrou eficiente na conservação dos frutos e no controle da antracnose, porém nas concentrações em que foram utilizadas, ocasionou leves queimaduras aos frutos.

Solino *et al.* (2012a), por sua vez, avaliaram os efeitos dos óleos de nim (*Azadirachta indica*), soja (*Glycine max* L), copaíba (*Copaifera langsdorfii*) e vinho de jatobá (*Hymenaea courbaril* L) na redução da antracnose em frutos de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims. *Flavicarpa* Deg.), onde constataram *in vitro* que todos os óleos estudados apresentaram atividade fungicida sobre o fungo da antracnose, sendo que os óleos de soja e de nim reduziram em maior grau a gravidade da doença.

Entre outras plantas com efeitos fungitóxicos sobre os fungos *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) e *Glomerella cingulata*, responsáveis pela antracnose em pós-colheita nos frutos de goiaba destacadas por Rozwalka *et al.* (2008b), encontram-se as plantas medicinais e aromáticas: alfavaca/manjeriço (*Ocimum basilicum*), calêndula (*Calendula officinalis*), bardana (*Arctium lappa*, *A. minus*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), capim-limão (*Cymbopogon citratus*), camomila (*Chamomilla recutita*), marcela (*Achyrocline satureioides*), funcho (*Foeniculum vulgare*), quebra-pedra (*Phyllanthus* sp.), sabugueiro (*Sambucus nigra*), lípia (*Lippia alba*), cavalinha (*Equisetum* sp.), gengibre (*Zingiber officinale*), tagetes (*Tagetes*

minuta), hortelã (*Mentha piperita*) e tansagem (*Plantago australis*, *P. major*). Na forma de óleos essenciais, extratos aquosos e decoctos, apresentaram propriedades fungitóxicas inibindo total ou parcialmente o crescimento *in vitro* de ambos os fungos.

Em plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.), Bonaldo *et al.* (2004a), concluíram que o extrato aquoso de eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) possui grande potencial no controle da antracnose em pepino, causada pelo patógeno *Colletotrichum lagenarium*, já que este possui a capacidade de induzir maior resistência e também por sua atividade antifúngica direta.

De acordo com Santos *et al.* (2014), o extrato de aroeira (*Schinus terebinthifolius*), *in vitro* possui um efeito fungitóxico capaz de inibir o desenvolvimento de diversos fungos, incluindo o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, porém, o extrato aquoso e hidrolato de sementes de aroeira, não apresentaram efeitos favoráveis em nenhuma das concentrações testadas no combate a este fungo em goiaba.

Em frutos de laranjeira, Toffano *et al.* (2012), utilizaram extratos aquosos do flavedo de *Citrus aurantifolia* cv. Tahiti, *Lentinula edodes*, *Agaricus subrufescens* e albedo de *Citrus sinensis* com o objetivo de induzir a resistência do fruto ao fungo da antracnose e ao bolor verde. De acordo com os estudos, ficaram evidentes que estes não são indutores de resistência quando utilizados em frutos de laranja Valência.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia, da UNICASTELO-Universidade Camilo Castelo Branco, Campus Fernandópolis, estado de São Paulo, durante o ano de 2014.

3.1. Óleos essenciais

Os ensaios foram realizados com treze óleos essenciais, adquiridos na BioEssência- Óleos essenciais (Jaú-SP), sendo eles: nim (*Azadirachta indica* A. Juss), cravo da índia (*Caryophyllus aromaticus* L.), hortelã pimenta (*Mentha piperita* L.), melaleuca (*Melaleuca alternifolia* Cheel), limão (*Citrus Limonium* L.), copaíba (*Copaifera langsdorfii* Desf.), eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill.), gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), manjerição (*Ocimum basilicum* L.), coco (*Cocos nucifera* L.), capim limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.), canela (*Cinnamomum zeylanicum* Breyn.) e citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) em concentrações que variaram de 0,00 a 100,00%, sendo elas: 0,00%, 0,40%, 0,80%, 1,70%, 3,20%, 6,25%, 12,50%, 25,00%, 50,00% e 100,00%.

3.2. Linhagem e preparação do inóculo

Foi utilizada uma linhagem padrão de *Colletotrichum gloeosporioides* (*Glomerella cingulata*, (Stonem.) Spauld. & v. Schrenk, CCT 5177), ATCC (American Type Culture Collection), adquirida na Fundação André Tozello (Campinas-SP).

O preparo do inóculo para os testes de eficácia foram realizados pelo método de microdiluição em placa de 96 poços, seguindo os protocolos do NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2004a). Culturas de 7 dias em meio ágar batata dextrose (BDA, Himedia®) foram transferidas para meio triptecaseína broth (Oxoid®) e incubadas a 37°C por 7 dias, quando se procedeu a centrifugação (4000 rpm) por cinco minutos. Em seguida o sobrenadante foi desprezado e o material precipitado ressuspensionado em solução

estéril de NaCl (0,5%) e novamente submetido a centrifugação. Este procedimento foi repetido cinco vezes com a finalidade de retirar os componentes do meio de cultura.

O material precipitado obtido foi ressuspenso em 10mL solução estéril de NaCl (0,5%), em seguida foram adicionados 90mL de solução de NaCl, e foram ajustadas ao tubo 0,5 da escala de Mc Farland. A partir desta solução foram realizadas diluições seriadas resultando uma concentração de $1,5 \times 10^6$ UFC mL⁻¹.

3.3 Determinação da concentração inibitória mínima

A concentração inibitória mínima (CIM) dos óleos essenciais foi determinada seguindo os protocolos do NCCLS (2004b), onde Placas de microdiluição com 96 poços com tampa esterilizadas, fundo plano K30-5096P Kasvi, foram distribuídas em 8 fileiras de A até H, com 12 poços para cada uma das letras. Em cada poço foram dispensados 100 µL de T.S.B. (caldo triptona de soja). Nas colunas de números 4 a 12 foram dispensados 50µL de óleo essencial nas concentrações 0,40%, 0,80%, 1,70%, 3,20%, 6,25%, 12,50%, 25,00%, 50,00% e 100,00% em cada uma das cavidades, e em seguida foram acrescentadas 25 µL da solução fungica. Reservou-se a coluna de número 2 e 3 para o controle positivo de crescimento e na coluna 1 para controle de esterilidade. A concentração inibitória mínima foi considerada como a menor concentração de óleo essencial capaz de inibir o desenvolvimento fúngico.

3.4 Determinação da concentração fungicida mínima

A concentração fungicida mínima (CFM) foi determinada após determinação da concentração inibitória mínima. As placas de microdiluição contendo poços com crescimentos visíveis ou não, foram agitadas vigorosamente, e em seguida 100µL da solução de cada poço foram transferidos para placas de Petri contendo meio agar batata dextrose e incubados a 37°C por 7 dias, sendo que a avaliação foi periódica. Designou-se como concentração fungicida mínima a concentração mínima em que não ocorreu crescimento fúngico (FAVRE *et al.*, 2003).

Uma vez determinada a concentração inibitória mínima e a concentração fungicida mínima, as mesmas foram utilizadas para avaliar o crescimento fúngico na presença dos óleos

em função do tempo, determinando-se curva de sobrevivência de acordo com a metodologia descrita por Sforcin *et al.* (2000). Os ensaios foram desenvolvidos em quadruplicata.

Para a avaliação do tempo necessário para reduzir a carga microbiana para valores nulos, as contagens microbianas foram analisadas de acordo com suas respectivas variações percentuais em cada período avaliado. O período referente à análise da contagem microbiana variou de 0 a 100 minutos com intervalos de 10 minutos. A variação percentual da contagem microbiana consistiu da seguinte relação:

$$\text{Contagem microbiana 0 – 10 min(\%)} = \frac{(\text{Contagem 10min} - \text{Contagem 0min})}{\text{Contagem 10min}} . 100$$

Essa relação foi empregada para todos os tempos avaliados, até o tempo máximo de 100 minutos. De acordo com a expressão acima, variações negativas resultam em diminuição na contagem microbiana e variações positivas em aumento da contagem microbiana ao longo do tempo avaliado.

A avaliação da contagem microbiana ao longo do tempo de exposição do fungo ao óleo essencial foi avaliada pela abordagem da variação da contagem microbiana percentual, a fim de se observar as variações da contagem microbiana ao longo do tempo estudado.

3.5. Avaliação dos resultados

Os dados foram avaliados por meio do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com teste de comparação múltipla de Dunn post-hoc quando $p < 0,05$. O nível de significância adotado para os testes estatístico foi de 0,05.

4. RESULTADOS

Em um primeiro momento foi realizado um estudo com todos os óleos essenciais para avaliar a concentração mínima inibitória (CMI) e a concentração mínima fungicida (CMF) a fim de caracterizar o potencial de cada um dos óleos avaliados. Na Tabela 1 estão as médias das contagens microbianas para cada um dos óleos essenciais avaliados em cada uma das concentrações.

Tabela 1. Médias da contagem microbiana para cada uma das concentrações avaliadas.

Óleo essencial	0,00%	0,40%	0,80%	1,70%	3,20%	6,25%	12,50%	25,00%	50,00%	100,00%	CIM	CMF
Hortelã	$1,0 \cdot 10^6$	$1,0 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^2$	$1,2 \cdot 10^2$	$9,6 \cdot 10^1$	2,7	0	0	0	0	6,25%	12,5%
Melaleuca	$1,0 \cdot 10^6$	$7,3 \cdot 10^3$	0	0	0	0	0	0	0	0	0,8%	0,8%
Limão	$1,0 \cdot 10^6$	$5,4 \cdot 10^3$	$3,2 \cdot 10^2$	$9,2 \cdot 10^1$	5,0	0	0	0	0	0	3,2%	6,25%
Copaíba	$1,0 \cdot 10^6$	$6,3 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^4$	$2,1 \cdot 10^3$	$8,3 \cdot 10^2$	$5,0 \cdot 10^1$	$1,7 \cdot 10^1$	0	0	0	25%	25%
Eucalipto	$1,0 \cdot 10^6$	$9,0 \cdot 10^3$	$1,8 \cdot 10^3$	$4,6 \cdot 10^1$	0	0	0	0	0	0	1,7%	3,2%
Gengibre	$1,0 \cdot 10^6$	$3,5 \cdot 10^5$	$5,7 \cdot 10^4$	$7,6 \cdot 10^3$	$1,8 \cdot 10^3$	$9,0 \cdot 10^2$	$1,4 \cdot 10^2$	5,0	0	0	50%	50%
Manjerição	$1,0 \cdot 10^6$	$8,3 \cdot 10^5$	$2,3 \cdot 10^4$	$5,6 \cdot 10^4$	$9,4 \cdot 10^3$	$1,2 \cdot 10^3$	$9,5 \cdot 10^2$	$1,2 \cdot 10^2$	4,3	0	100%	100%
Coco	$1,0 \cdot 10^6$	$5,0 \cdot 10^4$	$1,8 \cdot 10^4$	$1,6 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^3$	$8,1 \cdot 10^2$	$5,0 \cdot 10^1$	4,0	0	0	25%	50%
Capim limão	$1,0 \cdot 10^6$	$8,8 \cdot 10^4$	$1,8 \cdot 10^3$	$6,1 \cdot 10^2$	8,7	0	0	0	0	0	3,2%	6,25%
Cravo da índia	$1,1 \cdot 10^6$	$2,3 \cdot 10^5$	$1,7 \cdot 10^4$	$2,0 \cdot 10^2$	8,7	0	0	0	0	0	6,25%	6,25%
Canela	$1,0 \cdot 10^6$	$1,6 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^3$	$1,9 \cdot 10^2$	6,7	0	0	0	0	0	3,2%	6,25%
Citronela	$1,0 \cdot 10^6$	$3,6 \cdot 10^4$	$3,2 \cdot 10^3$	$8,8 \cdot 10^2$	$2,6 \cdot 10^1$	4,0	0	0	0	0	6,25%	12,5%
Nim	$1,1 \cdot 10^6$	$4,3 \cdot 10^4$	$1,4 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^3$	$2,9 \cdot 10^1$	0	0	0	0	0	3,2%	6,25%

Com os resultados da Tabela 1 foi possível determinar as concentrações mínimas inibitórias e as concentrações mínimas fungicidas para cada um dos óleos estudados. O fungo *Colletotrichum gloeosporioides* apresentou-se sensível aos óleos essenciais utilizados, constatando que não houve o crescimento do fungo com os óleos de melaleuca (0,80%), eucalipto (3,20%), limão (6,25%), capim limão (6,25%), cravo da índia (6,25%), canela (6,25%) e nim (6,25%). Os óleos de manjerição (100,00%) e gengibre (50,00%) necessitaram de uma maior concentração de óleo essencial para obter a concentração mínima fungicida.

Essas concentrações foram utilizadas para avaliar o tempo necessário de exposição para reduzir a contagem microbiana a valores nulos.

Na Figura 1 pode ser observado o comportamento das contagens microbianas referentes a cada uma das concentrações utilizadas para cada um dos óleos essenciais empregados.

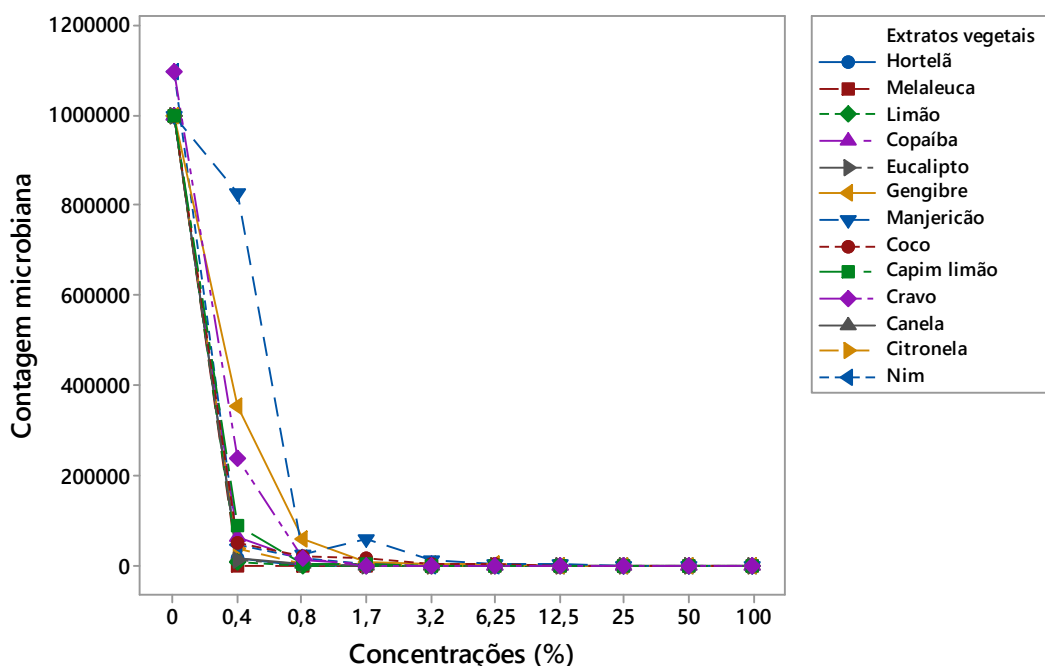


Figura 1. Comportamento da contagem microbiana de acordo com as concentrações avaliadas.

Na Figura 2 observa-se o detalhe do comportamento da contagem microbiana para cada um dos óleos essenciais com concentrações acima de 6,25%. Somente os óleos de melaleuca (0,80%) e de eucalipto (3,20%) que apresentaram Concentração Mínima Fungicida

abaixo de 6,25% foram excluídos do gráfico da Figura 2. Essa distinção foi realizada a fim de observar, com mais detalhes, a queda da contagem microbiana para cada um dos óleos avaliados.

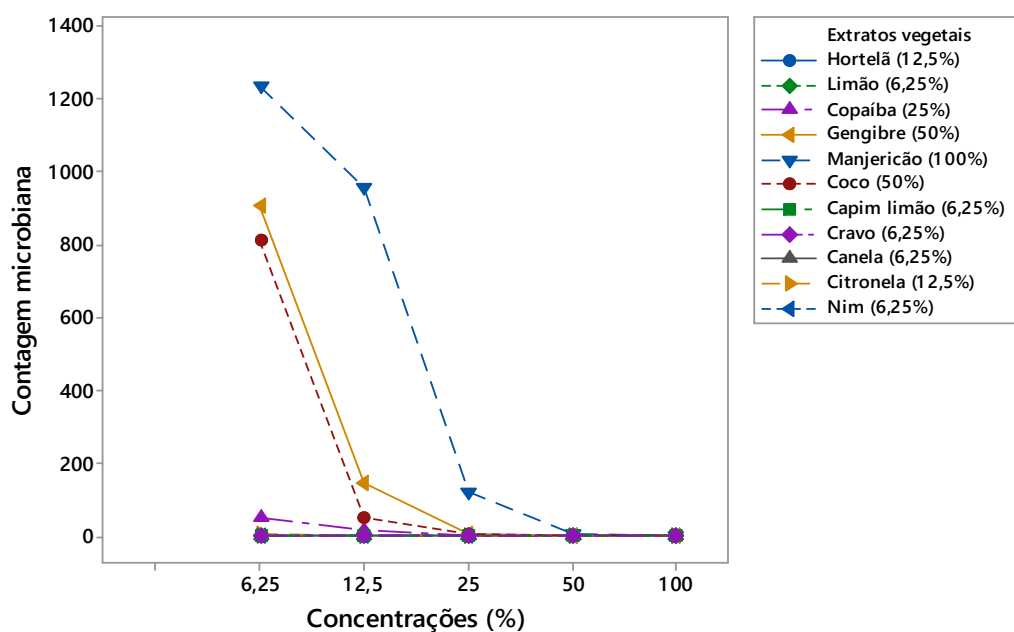


Figura 2. Comportamento da contagem microbiana a partir da concentração de 6,25% de óleo essencial.

Todas as variações foram avaliadas de forma conjunta, promovendo dados estatísticos que estão expostos na Tabela 2.

Tabela 2. Estatísticas descritivas da variação percentual (%) da contagem microbiana em relação aos óleos essenciais avaliados.

Óleo essencial	n	Média±DP	Mediana (Md) ²
Hortelã	27	-60,4±50,4	-71,2 ^b
Melaleuca	12	-98,3±2,1	-99,2 ^a
Limão	21	-89,3±6,0	-88,4 ^{ab}
Copaíba	12	-95,7±7,1	-99,4 ^a
Eucalipto	21	-87,5±12,2	-92,0 ^{ab}
Gengibre	21	-82,7±22,9	-90,0 ^{ab}
Manjerição	15	-84,0±30,9	-97,0 ^{ab}
Coco	18	-87,4±15,7	-94,5 ^{ab}
Capim limão	12	-98,5±1,2	-98,7 ^a
Cravo da Índia	30	-47,0±72,4	-77,8 ^b
Canela	18	-91,0±6,4	-92,0 ^{ab}
Citronela	9	-96,0±5,8	-99,8 ^{ab}
Nim	9	-99,3±0,9	-99,9 ^a

Letras diferentes na mesma coluna diferem-se de forma significativa pelo Teste de Dunn a $p < 0,05$.

Pelos resultados observa-se que há diferenças significativas nas variações percentuais da contagem microbiana ($p < 0,001$) quando tal contagem referente aos óleos essenciais é comparada. O teste de comparação múltipla forneceu dados que pressupõem maior eficácia dos óleos de melaleuca (-99,2%), copaíba (-99,4%), capim limão (-98,7%) e nim (-99,9%), sendo que esses óleos apresentaram maiores reduções da contagem microbiana (Tabela 2). Os compostos bioativos desses óleos foram mais eficazes na anulação da contagem microbiana, sendo que para melaleuca, copaíba e capim limão foram necessários 40 minutos de exposição para anular a carga microbiana, enquanto que para o óleo de nim foram necessários somente 30 minutos de exposição para obter o mesmo efeito (Figura 3 e 4).

Os óleos de hortelã (-71,2%) e cravo da Índia (-77,8%) foram os que apresentaram menor variação percentual (Tabela 2), pressupondo que o microrganismo resistiu por mais

tempo à ação dos compostos bioativos componentes desses óleos. Tal resultado é comprovado pelo tempo que esses óleos essenciais necessitaram para anular a carga microbiana, sendo de 90 minutos para hortelã e 100 minutos para cravo da índia (Figura 5).

A Figura 3 mostra o comportamento das variações percentuais da contagem microbiana de cada um dos óleos essenciais avaliados.

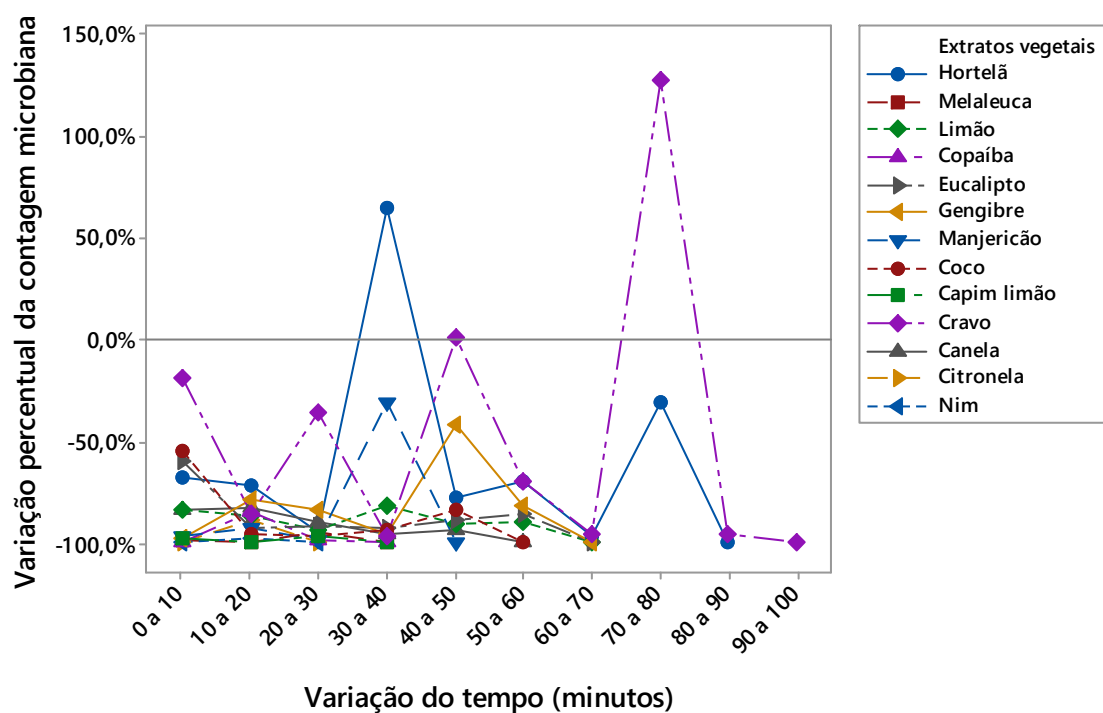


Figura 3. Variação percentual da contagem microbiana em relação aos óleos essenciais estudados.

O comportamento dos óleos essenciais que foram mais eficazes na redução da contagem microbiana e menos eficazes estão expostos nas Figuras 4 e 5.

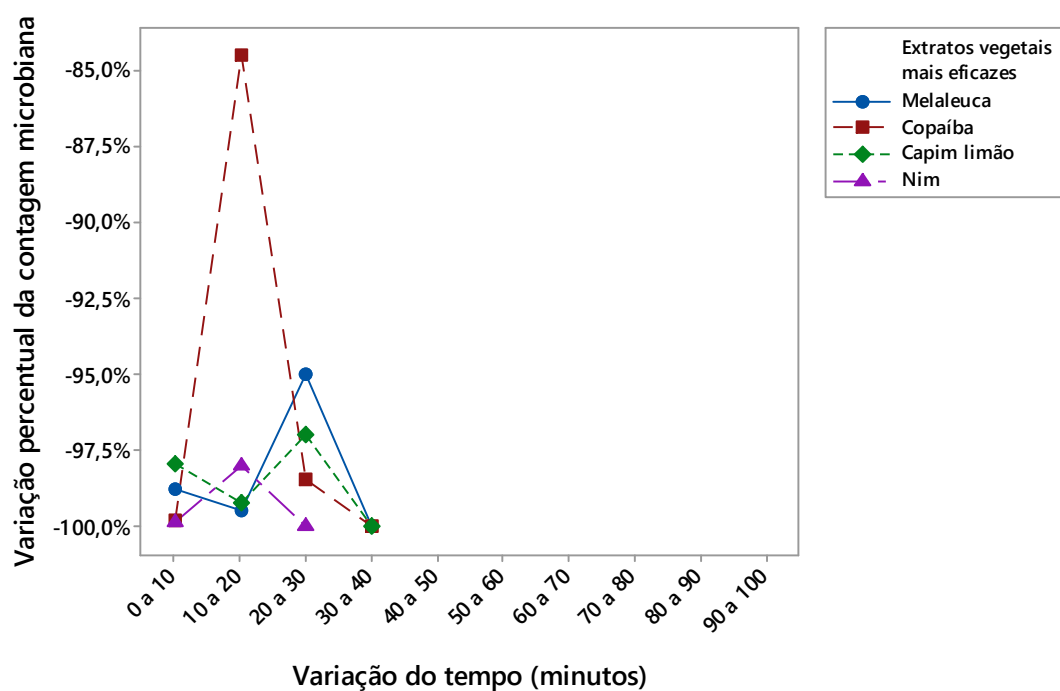


Figura 4. Comportamento da variação percentual da contagem microbiana em relação aos óleos essenciais mais eficazes.

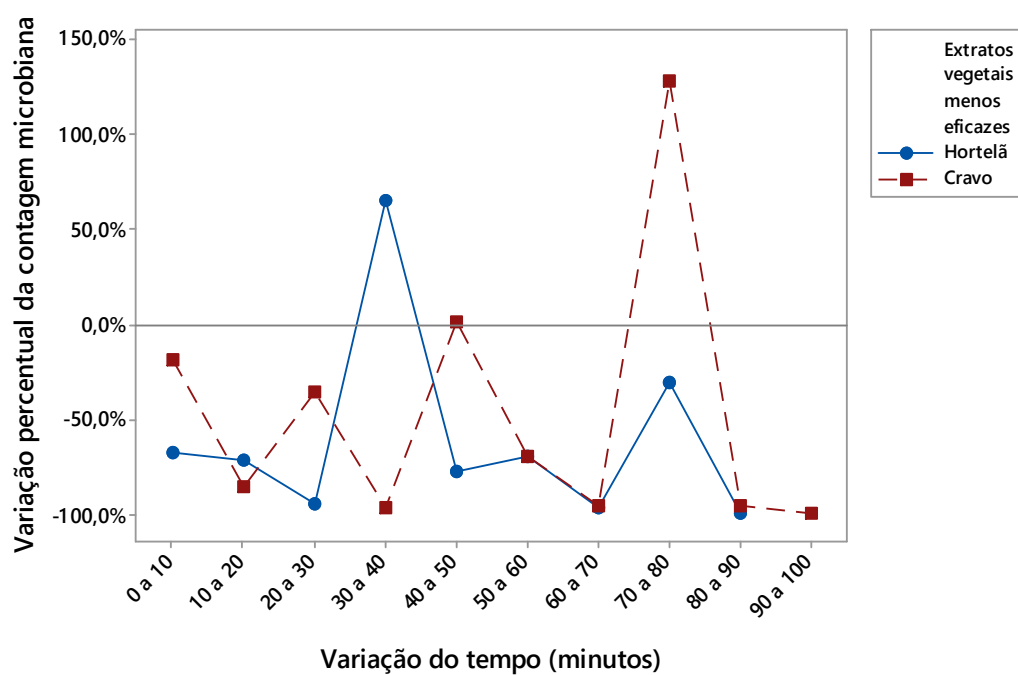


Figura 5. Comportamento da variação percentual da contagem microbiana em relação aos óleos essenciais menos eficazes.

5. DISCUSSÃO

Dentre os óleos estudados, observou-se maior eficácia dos óleos de melaleuca (-99,2%), copaíba (-99,4%), capim limão (-98,7%) e nim (-99,9%), sendo que esses óleos proporcionaram maiores reduções da contagem microbiana (Tabela 2). Para melaleuca, copaíba e capim limão foram necessários 40 minutos de exposição para anular a carga microbiana, enquanto que para o óleo de nim foram necessários somente 30 minutos de exposição para obter o mesmo efeito (Figura 4). Martinez (2002), observou que o óleo de sementes de nim tem uma maior eficiência devido a presença da azadiractina nas sementes em relação ao extrato de folhas. Silva, Pereira e Nakano (2011), constataram que a utilização do óleo de nim inibia o crescimento micelial do fungo em 60% na concentração de 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e que 53,8% da germinação de conídios do patógeno *Colletotrichum gloeosporioides* em isolado de folhas de seringueira. Leite *et al.* (2009), constataram que em função dos aumentos nas concentrações do óleo de nim, observaram uma redução do crescimento em diâmetro das lesões na maçã, nos diferentes períodos de avaliação, quanto à gravidade da antracnose. Ogbemor, Adekunle e Anobakhare (2007), constataram que após cinco dias de incubação, o extrato de nim (*Azadirachta indica*), promoveu a redução de 34,62% na germinação de esporos e reduziu significativamente o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* (Penzig) Saccardo. Segundo Amadioha & Obi (1998), lesões de antracnose em feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) provocado por *Colletotrichum lindemuthianum* foram reduzidas significativamente após a aplicação de extratos de óleo de nim, apresentando efeito fungitóxico superior ao fungicida benomyl. Solino *et al.* (2012b), constataram que os óleos de nim, soja, copaíba e vinho de jatobá apresentaram atividade fungicida *in vitro* sobre a antracnose, sendo que os óleos de soja e de nim reduziram em maior grau a gravidade da doença. Resultados contrastantes foram obtidos por Silva, Botelho e Faria (2012b), em suas pesquisas que observaram que o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, não foi reduzido pelo extrato de nim. O resultado foi reforçado pelos estudos de Govindachari *et al.* (1998), que constataram que a azadiractina, só possui efeito antifúngico mais acentuado quando foram adicionados terpenóides, pois quando usada pura não apresentou atividade antifúngica expressiva.

Assim como no presente estudo, outros autores também verificaram que o óleo de copaíba é eficiente no controle de alguns fungos. Oliveira *et al.* (2006), relataram que de uma maneira geral as espécies do gênero *Copaifera*, podem ser utilizadas no controle de espécies fúngicas *in vitro*. Estudos realizados por Solino *et al.* (2012c), constataram que com apenas 0,25 mL L⁻¹ o óleo resina de copaíba apresenta redução da antracnose *in vivo* no maracujazeiro amarelo, e que aumenta 4 dias a mais a vida útil dos frutos, chegando em até 12 dias quando tratados pelo óleo resina de copaíba no controle de perda de massa em maracujazeiro. Entretanto, a atividade antifúngica do óleo de copaíba não está de acordo com os resultados encontrados por Santos *et al.* (2007), que avaliaram que o óleo de copaíba apresenta uma excelente atividade antibacteriana, porém não exibiram atividade antifúngica.

Existem poucos relatos na literatura sobre pesquisas realizadas para o controle de micro-organismos fitopatogênicos com óleo de melaleuca e, as poucas pesquisas disponíveis, se aplicam ao controle de doenças humanas e de outros animais (MARTINS *et al.*, 2010a). O principal responsável por propriedades medicinais, principalmente antifúngicas e antibacterianas, está presente na constituição química do óleo essencial das folhas de *Melaleuca alternifolia*, sendo este rico em terpinen-4-ol (VIEIRA *et al.*, 2004). Abreu (2006), testando óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum* (canela), *Cymbopogon citratus* (capim-limão), *Syzygium aromaticum* (cravo), *Eucalyptus citriodora* (eucalipto), *Melaleuca alternifolia* (tea-tree) e *Mentha piperita* (hortelã) comprovou tanto em condições *in vitro* como em condições de campo o efeito desses agentes no controle de *Alternaria solani*. Em estudos realizados por Hammer, Carson e Riley (2004), o óleo de *Melaleuca alternifolia* apresenta atividade fungistática e fungicida em dermatófitos e fungos filamentosos. Martins *et al.* (2010b), verificaram que óleo de *Melaleuca arternifolia* em concentrações a partir de 0,2% incorporada ao meio de cultura, reduziu o crescimento micelial dos fungos *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Alternaria alternata*.

Para *Colletotrichum gloeosporioides* resultados semelhantes a esta pesquisa foram obtidos por Carnelossi *et al.* (2009c), que concluíram que o óleo essencial de capim-limão inibiu totalmente o desenvolvimento do patógeno *Colletotrichum gloeosporioides*. Souza-Júnior, Sales e Martins (2009), relataram que o tratamento com óleo essencial de capim-limão inibiu totalmente a germinação de esporos de *Colletotrichum gloeosporioides*. Guimarães *et al.* (2011), observaram uma alta fungitoxicidade do óleo essencial de capim-limão sobre os

fungos fitopatogênicos *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum cubense* e *Bipolaris* sp. Rozwalka *et al.* (2008c), observaram atividade antifúngica sobre o desenvolvimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* utilizando óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*). Carvalho *et al.* (2008), destacaram que o crescimento micelial e a esporulação de *Colletotrichum gloeosporioides* será menor utilizando uma maior concentração do extrato bruto aquoso de folhas de capim-limão. Uma diminuição significativa do crescimento dos fungos patogênicos *Colletotrichum coccodes*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium herbarum*, *Rhizopus stolonifer* e *Aspergillus niger* foi observado por Tzortzakis & Economakis (2007), utilizando o óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) em ensaios *in vitro*.

No presente trabalho o óleo de *Cymbopogon winterianus* (citronela), apresentou um bom resultado na concentração mínima fungicida (12,5%) sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, isso se deve a ação fungicida, repelente e bactericida da planta pelo seu alto teor de geraniol e citronelal (CASTRO *et al.*, 2007). Em estudos realizados por Brum (2012), observou-se uma redução da severidade da antracnose do sorgo (*Colletotrichum sublineolum*) pela eficiência dos óleos de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), hortelã-pimenta (*Mentha piperita*), capim citronela (*Cymbopogon nardus*), erva-cidreira (*Lippia alba*) e nim (*Azadirachta indica*).

Os resultados evidenciados neste estudo demonstram um bom efeito do óleo essencial de manjerição (-97,0) na variação percentual da contagem microbiana sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Tabela 2). Schwan-Estrada, Stanglarin e Cruz (2003) relatam em seus estudos que o extrato bruto e o óleo essencial de manjerona têm sido utilizados para estudos *in vitro* de inibição de crescimento micelial e esporulação de diversos fungos fitopatogênicos devido a potencialidade apresentada pela manjerona. Bernardo *et al.* (1998), verificaram que os óleos essenciais de manjerição, carqueja e arruda inibiram 100% a germinação e o crescimento micelial de *Colletotrichum graminicola*.

Pesquisas obtendo os mesmos resultados onde avaliou-se o potencial de óleo essencial já foram relatados. Os óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) e *Syzygium aromaticum* (cravo) apresentaram efeito antifúngico sobre o crescimento micelial de *C. musae*, agente etiológico da antracnose em banana (RANASINGHE; JAYAWARDENA; ABEYWICKRAMA, 2002a). Venturoso *et al.* (2011a), relatam a eficácia dos extratos de

bulbos de alho, casca de canela e botão floral do cravo-da-índia e suas atividades antifúngicas em testes *in vitro*, realizados sobre *Cercospora kikuchii*, *Fusarium solani*, *Colletotrichum* sp. e *Phomopsis* sp.

Observou-se a inibição do crescimento do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* quando exposto ao óleo de eucalipto nas concentrações de 3,2% (Tabela 1). Bonaldo, Schwan-Estrada e Stangarlin (2004b), observaram que utilizando extratos de *Eucalyptus citriodora* a germinação máxima de conídios de *Colletotrichum lagenaria* foi de 75%. Em pesquisas realizados por Lee *et al.* (2007), relatam que o óleo de *Eucalyptus citriodora* inibiu o crescimento dos fungos *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani* Kühn, *Fusarium oxysporum* Schlecht. e *Pythium ultimum* Throw. em 91, 87, 57 e 50%, respectivamente, porém o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* não foi reduzido.

O óleo essencial de gengibre em uma concentração de 50% inibiu o crescimento e desenvolvimento do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Tabela 1). Estudos utilizando extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e gengibre (*Zingiber officinale*) obtiveram efeito inibitório sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, indicando o potencial desses extratos no controle da antracnose em frutos de goiabeira (ROZWALKA *et al.*, 2008d).

Garcia *et al.* (2008) em seus estudos relataram a importante ação antifúngica do citral e outros monoterpenos em relação à *Colletotrichum gloeosporioides* e *C. musae*.

Os óleos de hortelã (-71,2%) e cravo da índia (-77,8%) foram os que apresentaram menor variação percentual (Tabela 2). Tal resultado é comprovado pelo tempo que esses óleos essenciais necessitaram para anular a carga microbiana, sendo de 90 minutos para hortelã e 100 minutos para o cravo da índia (Figura 5). Resultados semelhantes são observados por Santana *et al.* (2010), que utilizando diferentes concentrações do extrato de *Syzygium aromaticum* (cravo da índia) observaram inibição de apenas 15,1% do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*. Gomes (2008), também observou pelo teste de Índice de Velocidade de Crescimento Micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, inibição significativa do crescimento do fungo para os óleos essenciais de cravo, capim-limão e tomilho. Pesquisas obtendo resultados diferentes foram relatados por Venturoso *et al.* (2011b), que ao utilizar o extrato de cravo-da-índia a 20% não observaram crescimento do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. Ranashinge, Jayawardena e Abeywickrama (2002b), constataram que o óleo

de cravo apresentou ação antifúngica contra fungos *Lasioidiplodia theobromae*, *Colletotrichium musae* e *Fusarium proliferatum* isolados de banana. Em trabalhos desenvolvidos por Ribeiro & Bedendo (1999), se verificou propriedades antifúngicas dos extratos de hortelã, diminuindo o crescimento micelial e a esporulação do fungo *Colletotrichum gloesporioides*.

6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados encontrados, conclui-se que:

- O uso de óleos essenciais é promissor no controle do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*;
- O efeito antifúngico sobre o *Colletotrichum gloeosporioides* depende do óleo essencial e da concentração empregada;
- A maior eficácia na anulação da contagem microbiana sobre *Colletotrichum gloeosporioides* foram dos óleos de melaleuca (-99,2%), copaíba (-99,4%), capim limão (-98,7%) e nim (-99,9%);
- Os extratos de hortelã (-71,2%) e cravo da índia (-77,8%) apresentam menor variação percentual na anulação da contagem microbiana de *Colletotrichum gloeosporioides*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, C.L.M. **Controle de *Alternaria solani* em tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) com óleos essenciais**, 71 f. Tese (Doutorado em Agronomia – Horticultura) - UNESP – FCA Faculdade Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2006.
- ALVARENGA, A.L.; SCHWAN, R.F.; DIAS, D.R. *et al.* Atividade antimicrobiana de extratos vegetais sobre bactérias patogênicas humanas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** v. 9, p. 86-91, 2007.
- AMADIOHA, A.C.; OBI, V.I. Fungitoxic Activity of Extracts from *Azadirachta indica* and *Xylopia aethiopica* on *Colletotrichum lindemuthianum* in *Cowpea* .**Journal Herbs, Spices & Medicinal Plants**, Amherst, vol. 6 , p. 2 , p. 3 3-4 0, 1998.
- AMARAL, M.F.Z.J.; BARA, M.T.F. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas sobre o crescimento de fitopatógenos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, São Paulo, v.2, n.2, p.5-8, jun./dez. 2005.
- ANDRADE, E.M.; UESUGI, C.H.; UENO, B. *et al.* Caracterização morfocultural e molecular de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* patogênicos ao mamoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 22, 2007.
- ANDRADE, M.A.; CARDOSO, M. DAS G.; BATISTA, L.R. *et al.* Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 2, p. 399-408, 2012.
- AQUINO, C.F.; SALES, N. de L.P.; SOARES, E.P.S. *et al.* Chemical characterization and action of essential oils in the management of anthracnose on passion fruits. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 4, p. 1059-1067, 2012.
- BASTOS, C.N.; ALBUQUERQUE, P.S.B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotricum musae* em banana. **Fitopatologia brasileira**, v. 29, n. 5, p. 555-557, 2004.
- BERNARDO, R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R. *et al.* Fungitoxicidade de alguns óleos essenciais contra fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, v.23, p.227, 1998. Suplemento. Trabalho apresentado no CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 31.,1998, Fortaleza,CE. Resumos. Fortaleza, 1998.
- BONALDO, S.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R. *et al.* Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 128-134, (2004a).

BONALDO, S.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R. *et al.* Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 128-134, (2004b).

BONETT, L.P.; ALMEIDA, A.; GONÇALVES, R.G.A. *et al.* Caracterização morfo cultural e infecção cruzada de *Colletotrichum gloeosporioides* agente causal da antracnose de frutos e hortaliças em pós-colheita Morfo cultural characterization and cross infection *Colletotrichum gloeosporioides* causes anthracn. **Ambiência**, v. 6, n. 3, p. 451-463, 2011.

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

BOTELHO, R.V.; MAIA, A.J.; PIRES, E.J.P. *et al.* Efeito do extrato de alho na quebra de dormência de gemas de videiras e no controle *in vitro* do agente causal da antracnose (*Elsinoe ampelina* Shear). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 1, p. 096-102, 2009.

BRUM, R.B.C.S. **Efeito de óleos essenciais no controle de fungos fitopatogênicos**. 2012. 135 f. Dissertação – Mestrado em Produção Vegetal. Universidade Federal de Tocantins, Palmas, 2012.

CARNELOSSI, P.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S. *et al.* Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 399-406, abr. (2009a).

CARNELOSSI, P.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S. *et al.* Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 399-406, abr. (2009b).

CARNELOSSI, P.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S. *et al.* Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 399-406, abr. (2009c).

CARVALHO, J.B.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; BONALDO, S.M. *et al.* Fungitoxicidade de *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon martinii* a *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de pimentão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 10, n. 1, p. 88-93, 2008.

CASTRO, H.G.; BARBOSA, L.C.A.; LEAL, T.C.A.B. *et al.* Crescimento, teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 9, n. 4, p. 55-61, 2007.

CELOTO, M.I.B.; PAPA, M. de F.S.; SACRAMENTO, L.V.S. *et al.* Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*-DOI: 10.4025/actasciagron. v 30 i1. 1104. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 1, p. 1-5, 2008.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. rev. amp. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2005.

DAL POZZO, M.; VIÉGAS, J.; SANTURIO, D.F. *et al.* Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a *Staphylococcus* spp. isolados de mastite caprina. **Ciência Rural**, v. 41, n. 4, p. 667-672, 2011.

DANTAS, S.A.F.; OLIVEIRA, S.M.A.; BEZERRA NETO, E. *et al.* Indutores de resistência na proteção do mamão contra podridões pós-colheita. **Summa Phytopathologica**, v.30, p.314-319, 2004.

DIAS-ARIEIRA, C.R.; FERREIRA, L. da R.; ARIEIRA, J. de O. *et al.* Atividade do óleo de *Eucalyptus citriodora* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum acutatum* em morangueiro. **Summa Phytopathologica**, v. 36, n. 3, p. 228-232, 2010.

FAVRE, B.; HOFBAUER, B.; HILDERING, K. *et al.* Comparison of in vitro activities of antifungal drugs against a panel of 20 dermatophytes by using a microdilution assay. **Journal Clinical Microbiology** 2003;41:4817.

FELIPINI, R.B.; DI PIERO, R.M. Redução da severidade da podridão-amarga de maçã em pós-colheita pela imersão de frutos em quitosana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, p.1591-1597, 2009. DOI: 10.1590/S0100-204X2009001200005.

FISCHER, I.H.; ARRUDA, M.C.; ALMEIDA, A.M. *et al.* Doenças e características físicas e químicas pós-colheita em maracujá-amarelo de cultivo convencional e orgânico no centro-oeste paulista. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 2, p. 254-259, 2007.

FISCHER, I.H.; ARRUDA, M.C.; ALMEIDA, A.M *et al.* Doenças pós-colheita em variedades de manga cultivadas em Pindorama, São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.31, n.2, p. 352-359, 2009.

FRANZENER, G.; MARTINEZ-FRANZENER, A. da S.; STANGARLIN, J. R. *et al.* Atividades antibacteriana, antifúngica e indutora de fitoalexinas de hidrolatos de plantas medicinais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 1, p. 29-38, 2007.

FRIAS, D.F.; KOZUSNY-ANDREANI, D.I. Avaliação *in vitro* da atividade antifúngica de extratos de plantas e óleo de eucalipto sobre *Trichophyton mentagrophytes*; *In vitro* evaluation of the antifungal activity of plant extracts and eucalyptus oil on *Trichophyton mentagrophytes*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 11, n. 2, p. 216-220, 2009.

GARCIA, R.; ALVES, E.S.S.; SANTOS, M.P. *et al.* Antimicrobial activity and potential use of monoterpenes as tropical fruits preservatives **Brazilian Journal of Microbiology** v.39, p.163-168, 2008.

GOMES, E.C.; de SOUZA SERRA, I.M.R. Eficiência de produtos naturais no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em pimenta na pós-colheita. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 39, n. 4, p. 290-292, 2013.

GOMES, L.I.S. **Métodos de inoculação de *Colletotrichum gloeosporioides* e efeitos de óleos essenciais no controle da antracnose em frutos de mamoeiro**. 2008. 54p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

GOVINDACHARI, T.R.; SANDHYA, G.; GOPALAKRISHNAN, G. *et al.* Identification of antifungal compounds from the seed oil of *Azadirachta indica*. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 26, n. 2, p. 1-8, 1998.

GUIMARÃES, L.G.L.; CARDOSO, M.G.; SOUSA, P.E. *et al.* Atividades antioxidante e fungitóxica do óleo essencial de capim-limão e do citral. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 42, n. 2, p. 464-472, 2011.

HAMMER, K.A.; CARSON, C.F.; RILEY, T.V. Antifungal effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and its components on *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, n. 53, p. 1081-1085. 2004.

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

JUNQUEIRA, N.T.V.; CHAVES, R. da C.; NASCIMENTO, A.C. *et al.* Efeito do óleo de soja no controle da antracnose e na conservação da manga cv. Palmer em pós-colheita. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 222-225, 2004.

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

KAMEI, S.H.; COSTA, J.F. de O.; NETTO, M. dos S.B. *et al.* Identification and characterization of *Colletotrichum* species associated with anthracnose of annonaceous crops in the state of Alagoas, Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. SPE1, p. 209-216, 2014.

LEE, S.O.; CHOI, G.J.; JANG, K.S. *et al.* Antifungal Activity of Five Plant Essential Oils as Fumigant Against Postharvest and Soilborne Plant Pathogenic Fungi. **Plant Pathology Journal**, Daejeon, v. 23, n. 2, p. 97-102, 2007.

LEE, Y.; KIM, J.; SHIN, S. *et al.* Antifungal activity of Myrtaceae essential oils and their components against three phytopathogenic fungi. **Flavour Fragrance Journal**, v. 23, p. 23-28, 2008.

LEITE, C.D.; BOTELHO, R.V.; BROETTO, D. *et al.* Controle Pós-Colheita da Podridão Amarga da Maçã com o Uso do Óleo de Nim. Resumos do VI CBA e II CLAA. **Revista Brasileira de Agroecologia**. Camaragibe, v. 4, n. 2, p. 1644-1648, 2009.

LIMA FILHO, R.M.; OLIVEIRA, S.M.A.; MENEZES, M. Caracterização enzimática e patogenicidade cruzada de *Colletotrichum* spp. associados a doenças de pós-colheita. **Fitopatologia Brasileira** 28:620-625. (2003a).

LIMA FILHO, R.M.; OLIVEIRA, S.M.A.; MENEZES, M. Caracterização enzimática e patogenicidade cruzada de *Colletotrichum* spp. associados a doenças de pós-colheita. **Fitopatologia Brasileira** 28:620-625. (2003b).

LUSTOSA, D.C.; BERNARDES, V.P.; VIEIRA, T.A. *et al.* 12227-Uso de óleos essenciais no controle de fitopatógenos de espécies florestais. **Cadernos de Agroecologia**, v. 6, n. 2, 2011.

MAFACIOLI, R.; TESSMANN, D.J.; SANTOS, A.F. dos. *et al.* Caracterização morfo-fisiológica e patogenicidade de *Colletotrichum gloeosporioides* da pupunheira. **Summa Phytopathologica**, v. 32, p. 113-117, 2006.

MARIATH, I.R.; LIMA, I. de O.; LIMA, E. de O. *et al.* Atividade antifúngica do óleo essencial de *Eugenia aromatica* B. contra fungos dematiáceos. **Revista Brasileira de Farmacognitva**, v. 87, n. 3, p. 81-84, 2006.

MARTINEZ, S.S. **O Nim – *Azadirachta indica***: natureza, usos múltiplos, produção. Londrina: Instituto Agronômico do Paraná, 2002. 142p.

MARTINS, J.A.S.; SAGATA, É.; SANTOS, V.A. *et al.* Avaliação do efeito do óleo de *Melaleuca alternifolia* sobre o crescimento micelial *in vitro* de fungos fitopatogênicos. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 27, n. 1, p. 49-51, (2010a).

MARTINS, J.A.S.; SAGATA, É.; SANTOS, V.A. *et al.* Avaliação do efeito do óleo de *Melaleuca alternifolia* sobre o crescimento micelial *in vitro* de fungos fitopatogênicos. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 27, n. 1, p. 49-51, (2010b).

MARTINS, J.A.S.; SAGATA, É.; SANTOS, V.A. *et al.* Avaliação do efeito do óleo de melaleuca sobre o crescimento micelial *in vitro* de fungos fitopatogênicos= Evaluation of the effect of melaleuca oil on mycelial growth of phytopathogenic fungi *in vitro*. **Bioscience Journal**, v. 27, n. 1, 2011.

MOREIRA, C.G.Á.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; BONALDO, S.M. *et al.* Caracterização parcial de frações obtidas de extratos de *Cymbopogon nardus* com atividade elicitora de

fitoalexinas em sorgo e soja e efeito sobre *Colletotrichum lagenarium*. **Summa Phytopatologica**, v. 34, n. 4, 2008.

NASCIMENTO, L.C.; NERY, A.R.; RODRIGUES, L.N. Controle de *colletotrichum gloeosporioides* em mamoeiro, utilizando em mamoeiro, utilizando extratos vegetais, indutores de resistência e fungicida. **Acta Scientiarum Agronomia**. Maringá, v. 30, n. 3, p. 313-319, 2008.

NCCLS-NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS -. **Method for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacterial that grow aerobically: Approved Standard M7.A6**. 7.ed. Pennsylvania: Wayne, (2004a).

NCCLS-NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS -. **Method for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacterial that grow aerobically: Approved Standard M7.A6**. 7.ed. Pennsylvania: Wayne, (2004b).

NEGREIROS, R.J.Z.; SALOMÃO, L.C.C.; PEREIRA, O.L. *et al.* Postharvest control of antracnose in'prata'bananas with alternatives products to conventional pesticides. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 1, p. 51-58, 2013.

NERY-SILVA, F.A.; MACHADO, J.D.C.; RESENDE, M.L.V.D. *et al.* Metodologia de inoculação de fungos causadores da podridão peduncular em mamão. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 5, p. 1374-1379, (2007a).

NERY-SILVA, F.A.; MACHADO, J.D.C.; RESENDE, M.L.V.D. *et al.* Metodologia de inoculação de fungos causadores da podridão peduncular em mamão. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 5, p. 1374-1379, (2007b).

OGBEBOR, N.O.; ADEKUNLE, A.T.; ANOBAKHARE, D.A. Inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Sacc. causal organism of rubber (*Hevea brasiliensis* Muell.Arg.) leaf spot using plant extracts. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 6, n. 3, p. 213-218, 2007.

OLIVEIRA, A.C.M.; FONTANA, A.; NEGRINI, T.C. *et al.* Emprego do óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel (Myrtaceae) na odontologia: perspectivas quanto à utilização como antimicrobiano alternativo às doenças infecciosas de origem bucal. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** v. 13, n. 4, p. 492-499, 2011.

OLIVEIRA, F.C.; LOBATO, A.K.S.; GUEDES, E.M.S. *et al.* Avaliação do crescimento micelial de *Cylindrocladium sp.* submetido a meios de cultura preparado com extrato aquoso de *Ichthyotherecunabi* Mart. **In:** III CONGRESSO BRASILEIRO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NATURAIS, 15, Belém, 2006, Resumos. Embrapa: Belém, 2006, p. 158.

OSTROSKY, E.A.; MIZUMOTO, M.K.; LIMA, M.E.L. *et al.* Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.

PACKER, J.F.; LUZ, M.S. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 102-7, 2007.

PEREIRA, R.B.; LUCAS, G.C.; PERINA, F.J. *et al.* Potential of essential oils for the control of Brown eye spot in coffee plants. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n.1, p.115-23, 2011.

PERUCH, L.A.M.; SCHROEDER, A.L.; COLARICCIO, A. *et al.* Doenças do maracujazeiro amarelo. Florianópolis: **Epagri**, 2009. 99 p.

PINHO, D.B.; MIZOBUTSI, E.H.; SILVA, S. de O.E. *et al.* Avaliação de genótipos de bananeira à *Colletotrichum musae* em pós-colheita. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 3, p. 786-790, 2010.

RANASINGHE, L.; JAYAWARDENA, B.; ABEYWICKRAMA, K. Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et L.M. Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. **Letters in Applied Microbiology**, v. 35, n. 3, p. 208–11, (2002a).

RANASINGHE, L.; JAYAWARDENA, B.; ABEYWICKRAMA, K. Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et L.M. Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. **Letters in Applied Microbiology**, v. 35, n. 3, p. 208–11, (2002b).

RIBEIRO, L.F.; BEDENDO, I.P. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* - Agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. **Scientia Agricola**, v. 56, n. 4, p. 1267-1271, (1999).

RIGAMONTE-AZEVEDO, O.C.; WADT, P.G.; WADT, L.H. **Copaíba: ecologia e produção de óleo-resina**. Rio Branco, AC: EMBRAPA, MAPA, 2004.

ROZWALKA, L.C.; LIMA, M.L.R.Z.C.; MIO, L.L.M. *et al.* Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 301-307, (2008a).

ROZWALKA, L.C.; LIMA, M.L.R.Z.C.; MIO, L.L.M. *et al.* Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 301-307, (2008b).

ROZWALKA, L.C.; LIMA, M.L.R.Z.C.; MIO, L.L.M. *et al.* Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 301-307, (2008c).

ROZWALKA, L.C.; LIMA, M.L.R.Z.C.; MIO, L.L.M. *et al.* Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 301-307, (2008d).

SALGADO, S.M.L.; CAMPOS, V.P. Eclosão e mortalidade de *Meloidogyne exigua* em extratos e em produtos naturais. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 02, p. 166-170, 2003.

SANTANA, K.F.A.; DEZORDI, C.; COELHO NETO, R.A. *et al.* Efeito fungitóxico de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*. **In**: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 43. Cuiabá. Resumos... Cuiabá: SBF, 2010. p. 402.

SANTOS, A.O.; NAKAMURA, T.U.; DIAS, B.P. *et al.* Antimicrobial activity of copaiba oils obtained from different species of *Copaifera* in Brazil. **Planta Medicinal** 2007; 73.

SANTOS, J.C.; CARVALHO FILHO, C.D.; BARROS, T.F. *et al.* Atividade antimicrobiana *in vitro* dos óleos essenciais de orégano, alho, cravo e limão sobre bactérias patogênicas isoladas de vôngole. Semina: **Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, p. 1557-1564, (2011a).

SANTOS, J.C.; CARVALHO FILHO, C.D.; BARROS, T.F. *et al.* Atividade antimicrobiana *in vitro* dos óleos essenciais de orégano, alho, cravo e limão sobre bactérias patogênicas isoladas de vôngole. Semina: **Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, p. 1557-1564, (2011b).

SANTOS, M.C.; OLIVEIRA JUNIOR, L.F.G. DE.; OLIVEIRA, L.F.M. *et al.* Perfil volátil e potencial fungitóxico do hidrolato e extrato de sementes e folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 2, p. 284-289, 2014.

SANTURIO, J.M.; SANTURIO, D.F.; POZZATTI, P. *et al.* Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 803-808, 2007.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGLARIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 54-56, 2003. (Suplemento)

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

SFORCIN, J.M.; FERNANDES, J.R.A.; LOPES, C.A.M. *et al.* Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. **Journal of Ethnopharmics**, v.73, p. 243-249, 2000.

SILVA, A.C.; SALES, N.L.P.; ARAÚJO, A.V. *et al.* Efeito *in vitro* de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. isolado do maracujazeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, Edição Especial, p. 1853 -1860, (2009a).

SILVA, A.C.; SALES, N.L.P.; ARAÚJO, A.V. *et al.* Efeito *in vitro* de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. isolado do maracujazeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, Edição Especial, p. 1853 -1860, (2009b).

SILVA, A.C.; SALES, N.L.P.; ARAÚJO, A.V. *et al.* Efeito *in vitro* de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. isolado do maracujazeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, Edição Especial, p. 1853 -1860, (2009c).

SILVA, A.C.; SALES, N.L.P.; ARAÚJO, A.V. *et al.* Efeito *in vitro* de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. isolado do maracujazeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, Edição Especial, p. 1853 -1860, (2009d).

SILVA, C.M.; BOTELHO, R.V.; FARIA, C.M.R.D. Use of aqueous extract of chinaberry to control grapevine anthracnose. **Summa Phytopathologica**, v.38, n.4, p.312-318, (2012a).

SILVA, C.M.; BOTELHO, R.V.; FARIA, C.M.R.D. Use of aqueous extract of chinaberry to control grapevine anthracnose. **Summa Phytopathologica**, v.38, n.4, p.312-318, (2012b).

SILVA, D.M.H.; BASTOS, C.N. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de Piper sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 143-145, 2007.

SILVA, K.S.; REBOUÇAS, T.N.H.; LEMOS, O.L. *et al.* Patogenicidade causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) em diferentes espécies frutíferas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1, (2006a).

SILVA, K.S.; REBOUÇAS, T.N.H.; LEMOS, O.L. *et al.* Patogenicidade causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) em diferentes espécies frutíferas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1, (2006b).

SILVA, M.B.; MORANDI, M.A.B.; PAULA JÚNIOR, T.J. *et al.* Uso de princípios bioativos de plantas no controle de fitopatógenos e pragas. **Informe Agropecuário**, v. 31, n. 255, p. 70-77, 2010.

SILVA, M.B.; NICOLI, A.; COSTA, A.S.V. *et al.* Ação antimicrobiana de extratos de plantas medicinais sobre espécies fitopatogênicas de fungos do gênero *Colletotrichum*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 10, n. 3, p. 57-60, (2008a).

SILVA, M.B.; NICOLI, A.; COSTA, A.S.V. *et al.* Ação antimicrobiana de extratos de plantas medicinais sobre espécies fitopatogênicas de fungos do gênero *Colletotrichum*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 10, n. 3, p. 57-60, (2008b).

SILVA, R.A.; PEREIRA, R.E.A.; NAKANO, M.A.S. Inibição do crescimento micelial e germinação de *Colletotrichum gloeosporioides* na seringueira pelo óleo de neem. **Nucleus**, Ituverava, v. 8, n. 1, p.295-304, 2011.

SILVESTRI, J.D.F.; PAROUL, N.; CZYEWSKI, E. *et al.* Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Revista Ceres**, v. 57, n. 5, p. 589-594, 2010.

SOLINO, A.J. da S.; ARAÚJO NETO, S.E. de; SILVA, A.L.N. da. *et al.* Severidade da antracnose e qualidade dos frutos de maracujá-amarelo tratados com produtos naturais em pós-colheita. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.34, p.57 -66, (2012a).

SOLINO, A.J. da S.; ARAÚJO NETO, S.E. de; SILVA, A.L.N. da. *et al.* Severidade da antracnose e qualidade dos frutos de maracujá-amarelo tratados com produtos naturais em pós-colheita. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.34, p.57 -66, (2012b).

SOLINO, A.J. da S.; ARAÚJO NETO, S.E. de; SILVA, A.L.N. da. *et al.* Severidade da antracnose e qualidade dos frutos de maracujá-amarelo tratados com produtos naturais em pós-colheita. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.34, p.57 -66, (2012c).

SOUSA, R.M.S.; SOUZA SERRA, I.M.R.; MELO, T.A. Efeito de óleos essenciais como alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, em pimenta. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 1, p. 42-47, (2012a).

SOUSA, R.M.S.; SOUZA SERRA, I.M.R.; MELO, T.A. Efeito de óleos essenciais como alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, em pimenta. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 1, p. 42-47, (2012b).

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

SOYLU, E.M.; KURT, S.; SOYLU, S. *In vitro and in vivo* antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 143, n. 3., p. 183-189, 2010.

TAVARES, G.M. **Controle químico e hidrotérmico da antracnose em frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) na pós-colheita**. 2004. 55p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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

TOFFANO, L.; FISCHER, I.H.; BLUMER, S. *et al.* Potential of flavedo (epicarp) from *Citrus aurantifolia* cv. Tahiti on the control of green mold and anthracnose in citrus. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 1, p. 61-66, 2012.

TZORTZAKIS, N.G.; ECONOMAKIS, C.D. Antifungal activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus* L.) essential oil against key postharvest pathogens. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.8, p.253-8, 2007.

VENTUROSOS, L.R.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L. *et al.* Influência de diferentes metodologias de esterilização sobre a atividade antifúngica de extratos aquosos de plantas medicinais—Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Agrárias-Brasil-**Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 12, n. 4, p. 499-505, (2010a).

VENTUROSOS, L.R.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L. *et al.* Influência de diferentes metodologias de esterilização sobre a atividade antifúngica de extratos aquosos de plantas medicinais—Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Agrárias-Brasil-**Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 12, n. 4, p. 499-505, (2010b).

VENTUROSOS, L.R.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L. *et al.* Inibição do crescimento *in vitro* de fitopatógenos sob diferentes concentrações de extratos de plantas medicinais. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.78, n.1, p.89-95, (2011a).

VENTUROSOS, L.R.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L. *et al.* Inibição do crescimento *in vitro* de fitopatógenos sob diferentes concentrações de extratos de plantas medicinais. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.78, n.1, p.89-95, (2011b).

VIEIRA, T.R.; BARBOSA, L.C.A.; MALTHA, C.R.A. *et al.* Constituintes químicos de *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 4, Aug. 2004.

VIGO, S.C.; MARINGONI, A.C.; CAMARA, R. de C. *et al.* Ação de tinturas e óleos essenciais de plantas medicinais sobre o crescimento bacteriano comum do feijoeiro e na produção de proteínas de indução de resistência. **Summa Phytopathologica**, v. 35, n. 4, p. 293-304, 2009.

ZAGO, J.A.A.; USHIMARU, P.I.; BARBOSA, L.N. *et al.* Synergism between essential oils and antimicrobial drugs against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* strains from human infections. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 4, p. 828-833, 2009.