

**INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA NO TRÓPICO ÚMIDO –
PPG – ATU/INPA**

Fungitoxicidade de óleos essenciais sobre *Colletotrichum theobromicola*, causador da antracnose da cebolinha (*Allium fistulosum* L.)

SAMARA DA SILVA OLIVEIRA

Manaus, Amazonas

Março, 2019

SAMARA DA SILVA OLIVEIRA

Fungitoxicidade de óleos essenciais sobre *Colletotrichum theobromicola*, causador da antracnose da cebolinha (*Allium fistulosum* L.)

ORIENTADOR: Dr. Rogério Eiji Hanada

COORIENTADORA: Dr.^a. Patricia Melchionna Albuquerque

Dissertação apresentado ao mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agricultura no Trópico Úmido do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia /INPA, como parte da exigência para obtenção de título de mestre em Agricultura no Trópico Úmido.

Manaus – AM

Março de 2019

f OLIVEIRA, SAMARA DA
Fungitoxicidade de Óleos essenciais sobre
Colletotrichum theobromicola, causador da
antracnose da cebolinha (Allium fistulosum L.) /
SAMARA DA OLIVEIRA; orientadora Rogério Eiji
Hanada; coorientadora Patricia Melchionna
Albuquerque . -- Manaus: [s.l], 2019.
67 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós Graduação
em Agricultura do Trópico Úmido) -- Coordenação do
Programa de Pós-Graduação, INPA, 2019.

1. Óleos essenciais . 2. Atividade biológica. 3.
Piper spp.. 4. Lippia spp.. 5. Controle alternativo
. I. Hanada, Rogério Eiji, orient. II. Albuquerque
, Patricia Melchionna , coorient. III. Título.

CDD: 630

Folha de aprovação

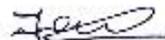
A Banca Julgadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

TÍTULO: "Fungitoxicidade de óleos essenciais sobre
Colletotrichum theobromicola, causador da antracnose da
cebolinha (*Allium fistulosum* L.)."

AUTOR(A):

SAMARA DA SILVA OLIVEIRA

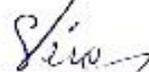
BANCA JULGADORA:



Dr. FRANCISCO CÉLIO MAIA CHAVES (EMBRAPA)
(Membro)



Dra. JANIA LILIA DA SILVA BENTES LIMA (UFAM)
(Membro)



Dra. SOLANGE DE MELO VERAS (UFAM)
(Membro)

Manaus, 21 de março de 2019

Aos meus pais Maria Dias da Silva e José da Silva Oliveira por toda força e sabedoria repassada ao longo da vida e pelo amor incondicional.

A todos agricultores que dedicam seu tempo na produção de alimento para suprir nossas necessidades e também aqueles que almejam praticar uma agricultura em bases sustentáveis

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me ter concedido a dádiva da vida e a oportunidade de vivê-la plenamente. Toda honra e toda glória a ti Senhor.

Ao longo dessa trajetória tive a honra de ter pessoas maravilhosas ao meu lado. Agradeço a minha família, em especial aos meus pais Maria Dias da Silva e José da Silva Oliveira que mesmo longe sempre me apoiaram na conquista dos meus objetivos e sonhos. Agradeço aos meus irmãos Maicon da Silva Oliveira, Ivanei Silva de Oliveira, Dhonatan Oliveira, Sabrina Oliveira e Luan Pablo (*in memoria*) por todos os dias felizes que tivemos juntos.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) e ao Programa de Pós-graduação em Agricultura no Trópico Úmido por dar oportunidades a nós estudantes e a CAPES pelo suporte financeiro ao desenvolvimento da pesquisa.

Ao meu orientador Dr. Rogério Eiji Hanada pela orientação ao longo do mestrado, por aperfeiçoar-me nos estudos, pelos conselhos e por sempre me estimular a dá o meu melhor. Exemplo de dedicação e profissionalismo.

A minha coorientadora Dra. Patrícia Melchiona Albuquerque pelo apoio e auxílio.

Ao Dr. Francisco Célio Maia Chaves e ao Laboratório Plantas Medicinais e Fitoquímica da Embrapa Amazônia Ocidental por ter cedido os óleos essenciais e por toda a disposição quando solicitados.

Ao Dr. Sérgio Duvoisin Junior pela atenção e apoio na análise química dos óleos essenciais e por ter permitido o acesso pleno ao laboratório de química.

Ao Dr. Genivaldo Moreira, professor da Universidade Federal do Acre, pela ajuda nas análises estatísticas e pela amizade.

Aos técnicos de laboratório de Microscopia Óptica e Eletrônica do INPA pela ajuda nas micrografias.

Ao técnico de laboratório de fitopatologia Luiz Alberto Guimarães (Tirico) por toda ajuda no desenvolvimento da pesquisa que sempre auxiliou com muita dedicação e atenção nos momentos solicitados. À técnica Dona Marilene por todas as conversas, carinho e companheirismo nas manhãs de trabalho; além do suporte dado no desenvolvimento da pesquisa.

As minhas amigas Carina Nascimento, Rosângela Lima e Werica Wasconcelos pela boa vontade em ajudar, pela amizade e momentos de entretenimento, conselhos e diversão.

Aos funcionários da Estação Experimental do INPA pelo apoio na realização do experimento e a todos que ajudaram direta ou indiretamente no desenvolvimento desta pesquisa

GRATA

‘A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original’.
(Albert Einstein)

Fungitoxicidade de óleos essenciais sobre *Colletotrichum theobromicola*, causador da antracnose da cebolinha (*Allium fistulosum* L.)

RESUMO: Os óleos essenciais são alternativas promissoras para o manejo de doença de plantas devido sua reconhecida atividade antimicrobiana. O objetivo com esta pesquisa foi avaliar o efeito fungitóxico de óleos essenciais de algumas espécies do gênero *Piper* spp., e *Lippia* spp., no controle alternativo a *Colletotrichum theobromicola* agente causal da antracnose da cebolinha (*Allium fistulosum* L.). Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação e a composição química dos óleos foi determinada por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/MS). A avaliação *in vitro* foi realizada em três etapas: I - efeito dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial, II - ação dos óleos sobre a germinação de conídios e III - efeito dos óleos essenciais sobre a morfologia das hifas de *C. theobromicola*. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 x 5 (cinco espécie de *Piper* spp.) e 3 x 5 (três espécies de *Lippia* spp.), ambos com cinco concentrações (0, 0,1; 0,2; 0,5; 1%). No experimento *in vivo* foi aplicado a concentração 1% dos respectivos óleos essenciais de forma preventiva diretamente nas cebolinhas inoculadas com *C. theobromicola* e assim, avaliada a incidência e severidade da antracnose. O experimento também foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições. Todos os dados foram submetidos a análise variância e as médias ao Teste de Tukey a 0.05. Os resultados dos componentes majoritários dos óleos essenciais mostraram que estes produtos naturais apresentam diversas substâncias químicas diferentes na sua composição. Para *P. aduncum* o componente majoritário detectado por CG-MS foi o apiol (93,83%); *P. hispidinervum* e *P. callosum* o safrol (79,96%) e (83,61%); *P. hispidum* o m-miceno (56,53%); *P. marginatum* o Bicyclo [4.1.0] hept-3-eno,3,7,7-trimetil (41,23%); *L. alba* o carvone (96,2%); *L. gracilis* o carvacrol (84,98%) e *L. sidoides* o o-cimeno (29,99%), respectivamente. Foi constatado que os óleos essenciais de todas as espécies e em todas as concentrações estudadas inibiram o crescimento de *C. theobromicola*. As espécies *P. callosum*, *P. hispidinervum*, *P. marginatum*, *L. alba* e *L. gracilis* proporcionaram redução do diâmetro da colônia a 0,90 cm e inibiram acima de 60% o crescimento micelial do fungo na concentração 0,2%. Em relação ao percentual de inibição da germinação de conídios as espécies *P. callosum* e *L. alba* demonstraram melhores resultados, pois a partir da menor concentração (0,1%) houve 100% de inibição da germinação dos esporos. Observações em microscopia de varredura, hifas de *C. theobromicola* expostas à concentração 1% mostraram alterações na sua morfologia, apresentando-se degradadas e enrugadas. Em relação ao efeito dos óleos essenciais na incidência da antracnose, os melhores resultados foram obtidos com os óleos essenciais de *P. aduncum*, seguida por *P. marginatum* e *L. alba* na qual constatou 10, 30 e 45% apenas de incidência em campo. Esta pesquisa comprova a eficácia dos óleos essenciais de algumas espécies do gênero *Piper* e *Lippia* tanto *in vitro* quanto *in vivo* e enfatiza a importância desses produtos no controle de fitopatógeno. Diante dos resultados obtidos, a pesquisa constitui uma base para mais estudos a esse respeito.

Palavra-chave: *Piper* spp., *Lippia* spp., controle alternativo, produtos naturais.

Fungitoxicity of essential oils on *Colletotrichum theobromicola*, causing anthracnose of *Allium fistulosum* L.

ABSTRACT: Essential oils are promising alternatives for the management of plant diseases due to their recognized antimicrobial activity. The objective of this research was to evaluate the fungitoxic effect of essential oils of some species of the genus *Piper* spp., and *Lippia* spp., in the alternative control to *Colletotrichum theobromicola* causal agent of the anthracnose of *Allium fistulosum*. The essential oils were obtained by hydrodistillation and the chemical composition of the oils was determined by GC-MS. The in vitro evaluation was carried out in three stages: I - effect of essential oils on mycelial growth, II - action of oils on conidial germination and III - effect of essential oils on the morphology of *C. theobromicola* hyphae. The experiments were conducted in a completely randomized design in a 5 x 5 (five *Piper* spp.) and 3 x 5 (*Lippia* spp) with five concentrations (0, 0.1, 0.2, 0.5, 1%). In the in vivo experiment, 1% of the respective essential oils were applied in a preventive manner directly to the *A. fistulosum* inoculated with *C. theobromicola* and thus evaluated the incidence and severity of anthracnose. The experiment was also conducted in a randomized design with five replicates. The experiment was also conducted in a randomized design with five replicates. All data were submitted to analysis of variance and the averages were the averages of Tukey's test at 0.05. The results of the major components of the essential oils showed that these natural products have several different chemical substances in their composition. For *P. aduncum* L. the major component detected by CG-MS was apiol (93.83%); *P. hispidinervum* and *P. callosum* safrole (79.96%) and (83.61%); *P. hispidum* or m-micene (56.53%); *P. marginatum* or Bicyclo [4.1.0] hept-3-ene, 3,7,7-trimethyl (41,23%); *L. alba* or carvone (96.2%); *L. gracilis* and carvacrol (84.98%) and *L. sidoides* and o-cymene (29.99%), respectively. It was found that essential oils of all species and in all studied concentrations inhibited the growth of *C. theobromicola*. The species *P. callosum*, *P. hispidinervum*, *P. marginatum*, *L. alba* (1) and *L. gracilis* provided reduction of the colony diameter at 0.90 cm and inhibited the mycelial growth of the fungus at 0, 2%. In relation to the percentage of inhibition of conidial germination to *P. callosum* and *L. alba* (1), the best results were obtained, since from the lowest concentration (0.1%) there was 100% inhibition of spore germination. Observations in scanning microscopy, hypothetical *C. theobromicola* hyphae exposed to the concentration 1% showed changes in their morphology, being degraded and wrinkled. In relation to the effect of essential oils on the incidence of anthracnose, the best results were obtained with the essential oils of *P. aduncum*, followed by *P. marginatum* and *L. alba* (1) in which it reduced 10, 30 and 45% of the disease in field. This research confirms the efficacy of the essential oils of some species of the genus *Piper* and *Lippia* both in vitro and in vivo and emphasizes the importance of these products in phytopathogenic control. Given the results obtained, the research provides a basis for further studies in this regard.

Keywords: *Piper* spp., *Lippia* spp., Alternative control, natural products.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1. A cultura da cebolinha (<i>Allium fistulosum</i> L.)	16
2.2. O gênero <i>Colletotrichum</i> e a doença antracnose	17
2.3. Metabolismo secundário das plantas	18
2.4. Óleos essenciais	19
2.5. Controle alternativo de doenças de plantas com óleos essenciais	20
2.6. Mecanismos de ação dos óleos essenciais em micro-organismos	22
2.7. O gênero <i>Piper</i>	23
2.8. O gênero <i>Lippia</i>	24
3. OBJETIVO GERAL	26
3.1. Objetivos específicos	26
4. MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1. Obtenção dos óleos essenciais	27
4.2. Análise química dos óleos essenciais	27
4.3. Teste de patogenicidade	28
4.4. Inibição do crescimento micelial de <i>Colletotrichum theobromicola</i> submetido aos óleos essenciais	28
4.5. Efeito dos óleos essenciais na germinação de conídios de <i>Colletotrichum theobromicola</i>	29
4.6. Avaliação do efeito dos óleos essenciais na morfologia de hifas de <i>Colletotrichum theobromicola</i> por microscopia eletrônica de varredura	30
4.7. Efeito dos óleos essenciais in vivo sobre a antracnose da cebolinha	31
4.8.	34
5. RESULTADO E DISCUSSÃO	35
5.1. Identificação dos componentes majoritários dos óleos essenciais de <i>Piper</i> spp.	35
5.2. Identificação dos componentes majoritários do óleo essencial de <i>Lippia</i> spp.	38
5.3. Inibição do crescimento micelial de <i>Colletotrichum theobromicola</i> submetido aos óleos essenciais de <i>Piper</i> spp.	40
5.4. Inibição do crescimento micelial de <i>Colletotrichum theobromicola</i> submetido aos óleos essenciais de <i>Lippia</i> spp.	Erro! Indicador não definido.
5.5. Efeito dos óleos essenciais na germinação de conídios de <i>Colletotrichum theobromicola</i>	46
5.6. Avaliação do efeito dos óleos essenciais na morfologia de hifas de <i>Colletotrichum theobromicola</i> por microscopia eletrônica de varredura	48
5.7. Efeito dos óleos essenciais na incidência e na severidade da doença	50
5.8. Análise biométrica e da biomassa da cebolinha	52
6. CONCLUSÃO	54

7. REFERÊNCIAS	55
----------------------	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Escala Diagramática para avaliação da severidade da antracnose em cebolinha (<i>Allium fistulosum</i> L.) causada por <i>Colletotrichum</i> spp (Santana 2015).....	33
Figura 2: Experimento em casa de vegetação	33
Figura 3. Componentes majoritários presentes no óleo essencial de <i>Piper aduncum</i> analisado por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massa CG/MS.	35
Figura 4. Componentes majoritários presentes no óleo essencial de <i>Piper hispidinervum</i> analisado por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massa CG/MS	36
Figura 5. Componentes majoritários presentes no óleo essencial de <i>Piper callosum</i> analisado por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massa CG/MS.	36
Figura 6. Componentes majoritários presentes no óleo essencial de <i>Piper hispidum</i> analisado por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massa CG/MS.....	37
Figura 7. Componentes majoritários presentes no óleo essencial de <i>Piper marginatum</i> analisado por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massa CG/MS.	37
Figura 8. Componentes majoritários presentes no óleo essencial de <i>Lippia alba</i> analisado por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massa CG/MS	38
Figura 9. Componentes majoritários presentes no óleo essencial de <i>Lippia gracilis</i> analisado por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massa CG/MS.	39
Figura 10. Componentes majoritários presentes no óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> analisado por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massa CG/MS.	39

Figura 11. Análise de regressão da Inibição do crescimento micelial de *Colletotrcum theobromicola* submetido a diferentes concentrações (0, 0,1; 0,2; 0,5; e 1%) dos óleos essenciais de *Piper* spp. **A** - *C. theobromicola* submetido ao óleo essencial de *Piper aduncum*; **B** - *C. theobromicola* submetido ao óleo essencial de *P. marginatum*; **C** - *C. theobromicola* submetido ao óleo essencial de *P. callosum*; **D** - *C. theobromicola* submetido ao óleo essencial de *P. hispidum*; **E** - *C. theobromicola* submetido ao óleo essencial de *P. hispidinervum*. 40

Figura 12. Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de *Colletotrchum theobromicola* submetido a diferentes concentrações (0, 0,1; 0,2; 0,5; e 1%) dos óleos essenciais de *Piper* spp. a, b – Para cada espécie, médias das concen concentrações seguidas da mesma letra minúscula não difere significativamente entre si; A, B – Para cada concentração, médias das espécies seguidas de mesma letra maiúscula não difere significativamente entre si; segundo o teste de Tukey a 5% de significância..... 42

Figura 13. Análise de regressão da Inibição do crescimento micelial de *Colletotrcum theobromicola* submetido a diferentes concentrações (0, 0,1; 0,2; 0,5; e 1%) dos óleos essenciais de *Lippia* spp..... 44

Figura 14. Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) do crescimento micelial de *Colletotrchum theobromicola* submetido a diferentes concentrações (0, 0,1; 0,2; 0,5; e 1%) dos óleos essenciais de *Lippia* spp. 45

Figura 15. Imagens de microscopia eletrônica de varredura de morfologia de hifas *Colletotrichum theobromicola*. **A** - controle - hifas normais. **B** - hifas expostas ao óleo essencial de *Lippia alba*. **C** - hifas expostas ao óleo essencial de *Lippia alba* (2). **D** - hifas expostas ao óleo essencial de *Lippia gracilis*. **E** - hifas expostas ao óleo essencial de *Lippia sidoides*. **F** - hifas expostas ao óleo essencial de *Piper aduncum*. **G** - hifas expostas ao óleo essencial de *Piper marginatum*. **H** - hifas expostas ao óleo essencial de *Piper callosum*. **I** - hifas expostas ao óleo essencial de *Piper hispidum*. 49

Figura 16. Incidência da antracnose em plantas de cebolinha (*Allium fistulosum* L.). 1 –água; 2 – aplicação somente com a suspensão de esporos; 3 – fungicida; - 4 – aplicação do óleo essencial de *Lippia sidoides*; 5 – aplicação com óleo essencial de *L. gracilis*; 6 - aplicação com óleo essencial de *L. alba* ; 7 – aplicação com óleo essencial *Piper hispidinervum*; 8 – aplicação do óleo essencial *P. marginatum*; 9 – aplicação com óleo essencial de *P. aducum*. 51

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

% - Percentagem

°C - Grau Celsius

BDA - ágar batata dextrose

CBM - Concentração Bactericida Mínima

cm - Centímetro

CMI - Concentração mínima inibitória

GC- Cromatografia gasosa

Kg - Quilograma

mg - Miligrama (s)

mL - Mililitros

MS- Espectometria de massa

L - litro

R² - Coeficiente de determinação

t - Tempo

α - Alfa

β - Beta

γ - Gama

ρ - Para

1. INTRODUÇÃO

A cebolinha verde (*Allium fistulosum* L.) é uma espécie da classe Liliopsida, ordem Liliales, pertencente à família Alliaceae (Almeida 2006). A planta, considerada perene, apresenta folhas cilíndricas e fistulosas, coloração verde-escuro e altura variando de 30 cm a 50 cm (Filgueira 2000). Por ser uma planta condimentar, a cultura é amplamente cultivada em todo território nacional pela população para dar aroma e sabor a diversos pratos típicos brasileiros (Gama *et al.* 2016).

Embora seja facilmente cultivável, algumas doenças, como a antracnose, causada pelos fungos *Colletotrichum spaethianum* (Allesch.), (Santana *et al.* 2016), *C. theobromicola* (Dela-croix) e *C. truncatum* (Schwein.) (Matos *et al.* 2017), causam prejuízos aos produtores, pois afeta a qualidade do produto e causa perdas que podem atingir até 100% da produção em condições favoráveis a doença se medidas de controle não forem aplicadas (Santana *et al.* 2018). Os principais sintomas desta doença são lesões marrons e necróticas que se estendem por todo o comprimento da planta (Matos *et al.* 2017b), com o progresso da doença, as lesões coalescem formando grandes áreas necrosadas, as folhas terminam secas e morrem (Santana *et al.* 2018b).

O fato é que não há fungicidas registrados para o controle de fitopatógenos nesse hospedeiro (Agrofit 2019), e uma das possíveis justificativas é a sua exploração em pequenas áreas (Araújo *et al.* 2012). Segundo esses autores, o uso de agrotóxicos seria problemático, pois a planta apresenta ciclo curto e os resíduos dos produtos podem permanecer nas folhas comercializáveis. Diante dessa problemática, é importante avaliar métodos alternativos para o controle de *Colletotrichum* spp. através de produtos naturais. Os óleos essenciais são produtos naturais que apresentam amplo espectro e são biodegradáveis (La Torre *et al.* 2014), compatíveis com esse patossistema.

Óleos essenciais são originados a partir do metabolismo secundário das plantas, são substâncias complexas, voláteis, caracterizados por um forte odor (Navarrete *et al.* 2011), exibem atividade antifúngica, na qual sua importância para agricultura está associada à alta segurança biológica, natureza biodegradável e apresenta baixo risco de desenvolvimento de resistência de micro-organismos (Russo *et al.* 2013), causam menos impactos ambientais e na saúde humana do que muitos dos pesticidas convencionais (Isman *et al.* 2011).

As substâncias bioativas encontradas nos óleos essenciais causam inibição do crescimento micelial, inibição da esporulação e germinação de conídios, além de reduzir a incidência e a severidade de doenças nas culturas (Chiejina e Ukeh, 2012; Ramos *et al.* 2016). Vários

autores constataram o potencial de óleos essenciais sobre fitopatógenos, como em *Colletotrichum* spp. (Souza Júnior *et al.* 2009; Souza *et al.* 2012; Andrade e Vieira, 2016), *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp. (Lorini *et al.* 2016) e *Alternaria* sp. (Tomazoni *et al.* 2016).

Diante do exposto, é importante desenvolver atividades de pesquisa para determinar a concentração mais efetiva do óleo essencial a ser utilizada no controle de fungos que afetam as culturas e identificar os compostos presentes nos óleos essenciais mais eficientes no controle de patógenos. Além disso, estudos em condições de campo devem ser realizados para avaliar o efeito direto desses óleos nas plantas (Aquino 2011).

Sendo o Brasil detentor de grande biodiversidade, com milhares de espécies vegetais catalogadas (Stangarlin *et al.* 1999), pode-se encontrar nos vegetais moléculas que podem servir de modelo para síntese química, gerando produtos de baixo custo, eficazes, ambientalmente seguros, padronizados, registrados, com controle de qualidade que atendam às necessidades dos produtores (Moraes 2009).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1.A cultura da cebolinha (*Allium fistulosum* L.)

A cebolinha (*Allium fistulosum* L.), também conhecida como cebolinha-comum teve origem na Sibéria. As plantas dessa espécie são consideradas perenes, apresentam folhas cilíndricas e fistulosas, com 0,30 a 0,50 m de altura e coloração verde-escuro (Filgueira 2000). *Allium fistulosum*, produzem pequeno bulbo cônico, envolvido por película rósea, com perfilhamento e formação de touceira (Zárate e Vieira 2004).

Uma hortaliça bastante rústica, pouco exigente em solo e clima e adapta-se a uma ampla faixa de temperaturas (Filgueira 2000). *Allium schoenoprasum* L. e *A. fistulosum*, são as duas espécies de cebolinha comumente cultivadas por pequenos olericultores. Embora a cebolinha suporte frios prolongados e existam cultivares que resistam bem ao calor, esta tem poucas restrições quanto ao seu plantio que pode ser realizado em qualquer época do ano. O rebrotamento é aproveitado para novos cortes, podendo um cultivo ser explorado por dois a três anos, principalmente quando são conduzidos em condições de clima ameno (Zárate *et al.* 2003).

A cebolinha prefere solos sílico-argilosos a areno-argilosos, desde que sejam férteis, profundos e bem drenados, com pH entre 6,0 e 6,5 e com bom teor de matéria orgânica. A adubação normalmente consiste na adição de esterco de galinha, na razão de 5 a 10 litros.m⁻². A colheita da inicia-se entre 55 e 60 dias após o plantio ou entre 85 e 100 dias após a semeadura, quando as folhas atingem de 0,20 a 0,40 m de altura (Filgueira 2000).

Estima-se que em 2013, o Estado do Amazonas produziu 142.747,50 mil maços de cebolinha em 256,94 hectares (IDAM, 2014). Embora sejam uma cultura de fácil manejo e com baixo custo, alguns entraves colaboram para a baixa produtividade na região amazônica, destacando-se os problemas fitossanitários. A antracnose ou “mal das sete voltas” é uma das doenças que mais afeta a cultura, devido à agressividade do patógeno (*Colletotrichum* spp.) em regiões tropicais e subtropicais (Santana 2015).

2.2.O gênero *Colletotrichum* e a doença antracnose

A antracnose é uma doença causada pelos fungos *Colletotrichum* spp. O gênero *Colletotrichum* contém uma diversidade de fungos que inclui desde patógenos de plantas até saprófitas. Estes patógenos apresentam importância mundial, pois provocam perdas de pré e pós-colheita em diversas espécies hospedeiras (Adaskaveg e Hartin, 1997). Os sintomas típicos da doença geralmente são lesões arredondadas, grandes, necróticas e bordos ligeiramente elevados com o centro dos tecidos deprimidos, onde são produzidas massas de conídios de coloração alaranjada (Bailey *et al.* 1992).

O patógeno é disseminado por sementes, respingos de chuva, vento, insetos, implementos agrícolas e de mudas infectadas (Viana *et al.* 2003). Espécies deste gênero apresentam diversas estratégias de invasão nos tecidos das plantas, que vão de hemibiotrófica a intracelular necrotrófica. Estes patógenos desenvolvem uma série de estruturas de infecção especializadas, incluindo tubos germinativos, apressórios, haustórios, hifas intracelulares necrotróficas secundárias e acérvulos (Lins *et al.* 2007). A sobrevivência do patógeno se dá em restos culturais e em tecidos afetados na própria planta (Pio-Ribeiro e Mariano, 1997).

Na cebola (*Allium cepa* L.), as perdas na produção de bulbos devido à antracnose (*C. gloeosporioides* f. sp. *cepae* (Penz.) Penz & Sacc) podem chegar a 100% em condições favoráveis à doença (Pereira *et al.* 2014). O gênero *Colletotrichum* causa doença em diversos hospedeiros. Na bananeira (*Musa* spp.), *Colletotrichum musae* (Berk. & Curtis) von Arx., pode causar perdas de até 40% da produção da fruta (Pessoa *et al.* 2007). Os sintomas são lesões escuras e

deprimidas, que sob condições ambientais favoráveis, com altas temperaturas e umidade, a doença progride e as áreas afetadas ficam recobertas de frutificação de coloração rósea (Couto e Menezes, 2004).

Há relatos de incidência da antracnose na cultura da goiabeira (*Psidium guajava* L.) (Piccinin *et al.* 2005), no tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) atacado por *C. gloeosporioides* Penz. & Sacc., e *C. acutatum* Simmonds., pimentão (*Capsicum annuum* L.) pelas espécies *C. acutatum* e *C. gloeosporioides* (Töfoli *et al.* 2015). Diferentes espécies de *Colletotrichum* podem atacar o mesmo hospedeiro, assim como uma única espécie do patógeno pode afetar diversos hospedeiros, assim ocorre na cebolinha, que é infectado por mais de uma espécie de *Colletotrichum*, incluindo *C. spaethianum* (Santana *et al.* 2016), *C. theobromicola* e *C. truncatum* (Matos *et al.* 2017).

Os tratos culturais no manejo da antracnose consistem em evitar plantios sucessivos, utilizar sementes ou mudas sadias, plantio menos adensados, evitar o acúmulo de umidade, realizar adubações equilibradas e uso de defensivos (Gomes e Serra 2013). Devido ao curto ciclo da cebolinha, a aplicação de produtos químicos seria considerada problemático, uma vez que os produtos podem permanecer nas folhas comercializáveis (Araújo *et al.* 2012).

O uso de produtos naturais, advindos do metabolismo secundário das plantas, como os óleos essenciais ou extratos de plantas seria compatível com esse patossistema, pois são produtos reconhecidos como seguros (Souza *et al.* 2012; Santana, 2015; Silva *et al.* 2017).

2.3. Metabolismo secundário das plantas

O metabolismo celular é um conjunto de reações químicas que acontecem nas células dos organismos vivos (Nelson e Cox 2011). No caso das células vegetais, o metabolismo é comumente dividido em primário e secundário. O metabolismo primário de plantas apresenta ação direta com a fotossíntese, respiração, transporte de solutos, translocação, síntese de proteínas, assimilação de nutrientes, diferenciação ou síntese de carboidratos, proteínas e lipídeos (Taiz e Zeiger 2006). No metabolismo secundário são sintetizados os compostos derivados biologicamente dos metabólitos primários, que apresentam estruturas complexas, baixo peso molecular e em concentrações relativamente baixas em grupos específicos de plantas (Raven *et al.* 2007).

Esses compostos exercem papel importante na adaptação das plantas aos seus ambientes (Aerts *et al.* 1991), pois, as defendem contra herbívoros, micro-organismos, vírus ou plantas

concorrentes (Wink 1988). Além disso, desempenham papéis importantes na polinização e dispersão de sementes, bem como na interação de plantas com espécies mutualistas de bactérias e fungos e nas interações com outras plantas, sendo, portanto, importantes para a sobrevivência e manutenção física das plantas (Wink 2003).

Muitos dos metabólitos secundários são utilizados pelas indústrias farmacêuticas, na produção de cosméticos, nutrição, corantes e fragrâncias (Guerriero *et al.* 2018). Os óleos essenciais são exemplos de metabólito secundário amplamente estudado devido suas características amplamente diversificadas e que desperta interesse pelas indústrias (Liaqat *et al.* 2018). Segundo Bakkali *et al.* (2008), são conhecidos aproximadamente 3000 óleos essenciais, dos quais 300 são comercialmente importantes para a indústria, especialmente para produtos farmacêuticos, indústrias agrônômicas, alimentares, sanitárias, cosmética e perfumaria.

2.4. Óleos essenciais

Óleos essenciais são substâncias originadas a partir do metabolismo secundário das plantas, são compostos voláteis, naturais e complexos, caracterizados por forte odor (fragrância), menos densos e mais viscosos que a água à temperatura ambiente (Navarrete *et al.* 2011), são lipossolúveis e solúveis em solventes orgânicos, muito instáveis, principalmente na presença de ar, luz, calor, umidade e metais (Simões *et al.* 2010). Nas plantas, os óleos essenciais quando volatilizam agem na proteção contra predadores e patógenos, na atração de polinizadores, na redução da perda de água e na inibição de germinação de sementes (Bakkali *et al.* 2008).

As plantas produtoras de óleos essenciais pertencem a vários gêneros distribuídos em cerca de 60 famílias, sendo: Alliaceae, Apiaceae, Asteraceae, Lamiaceae, Myrtaceae, Poaceae e Rutaceae são as mais conhecidas por sua capacidade de produzir estas substâncias (Raut e Karuppayil 2014). De acordo com Simões *et al.* (2004), a síntese e o acúmulo dos óleos essenciais estão associados a presença de estruturas histológicas especializadas, localizadas sobre ou nas proximidades da superfície da planta, como nos pelos glandulares (Lamiaceae), células parenquimáticas diferenciadas (Laureaceae, Piperaceae e Poaceae), canais oleíferos (Apiaceae e Asteraceae) ou glândulas secretoras (Myrtaceae).

Muitos fatores, incluindo variação genética, nutrição das plantas, localização geográfica das plantas, área circundante, clima, variações sazonais, estresse durante o crescimento ou maturidade e também a secagem e armazenamento pós-colheita, afetam na composição química dos óleos essenciais (Oliveira *et al.* 2011). Além disso, o tipo de material vegetal utilizado e o

método de extração determinam o rendimento e a composição (constituintes) de um óleo essencial, e assim decide sua propriedade biológica característica (Nakatsu *et al.* 2000).

Devido ao amplo aspecto de uso, é importante estudos com a finalidade de compreender o uso de óleos essenciais em diversas áreas, em especial, na agricultura e meio ambiente (Carson *et al.* 2006), pois são fonte rica em moléculas bioativas (Liaqat *et al.* 2018b) e que estão ganhando interesse devido à sua eficácia no manejo de doenças de plantas (Banani *et al.* 2018).

2.5. Controle alternativo de doenças de plantas com óleos essenciais

O controle de pragas é um desafio para o homem desde o surgimento da agricultura, e dentro desta perspectiva, o agrotóxico é o mais utilizado (Dinis *et al.* 2008). A fitotoxicidade, efeitos residuais, resistência de patógenos causados pelo intenso uso de fungicidas tem levado a busca por produtos alternativos proveniente das plantas (Bastos e Albuquerque, 2004). Diante desse contexto, as pesquisas fitopatológicas no controle de fungos e outros micro-organismos utilizando produtos naturais cresceram nos últimos anos (Figueiredo *et al.* 2008; Alipour *et al.* 2015; Nerilo *et al.* 2015; Li *et al.* 2017; Santamarina *et al.* 2017).

A identificação de compostos químicos obtidos de plantas possibilita a obtenção de algumas substâncias capazes de controlar ou reduzir o desenvolvimento de fitopatógenos (Silva, 2009). Trabalhos *in vitro* avaliando o potencial de extratos brutos e óleos essenciais, mostraram que ambos têm potencial, devido sua capacidade fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos de fungos (Schwan-Estrada *et al.* 2003). A atividade biológica dos óleos essenciais e de seus constituintes pode atuar como agentes fungistáticos e/ou fungicida dependendo das concentrações utilizadas (Brum 2012).

A ação dos produtos naturais frente a micro-organismos pode ocorrer como antimicrobiana (agindo direto sobre o patógeno), indutores de resistência, ativando os mecanismos de defesa da planta através de moléculas bioativas (Banani *et al.* 2018b), inibem a produção de micotoxina (Passone *et al.* 2012; Ferreira *et al.* 2013; Li *et al.* 2016b), inibidores da síntese de ergosterol (Yamamoto-Ribeiro *et al.* 2013; Kohiyama *et al.* 2015; Hu *et al.* 2017) e protegem as sementes contra agentes fitopatogenicos (Girardi *et al.* 2018).

Os óleos essenciais podem ter de 20 a 60 compostos diferentes nas mais variadas concentrações. Na maioria das vezes, a atividade biológica de um óleo essencial é decidida por um ou dois dos seus principais constituintes químicos (Bakkali *et al.* 2008b). Mas, às vezes, a atividade biológica é devido à presença de uma combinação de moléculas em consequência dos

efeitos sinérgicos de vários constituintes químicos dos óleos (Isman *et al.* 2008). O mesmo óleo pode ser ativo contra um amplo espectro de espécies de micro-organismos, porém as concentrações mínimas inibitórias (CMI) podem variar (Antunes e Cavacob 2010).

O efeito dos óleos essenciais frente a micro-organismo depende do tipo, composição, concentração, processamento e condições de estocagem do óleo, além da espécie de micro-organismo em estudo (Bertini *et al.* 2005). Existem muitos óleos essenciais que foram avaliados quanto ao seu potencial antimicrobiano *em condições in vitro* e *in vivo*. Algumas espécies de plantas, como o eucalipto (*Eucalyptus citriodora* Hooker M.) (Venturoso *et al.* 2010), o hortelã (*Mentha* sp.) (Sousa *et al.* 2012), o capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf.), a menta (*Mentha piperita* L.) (Sarmiento-Brum *et al.* 2014) e o cravo da Índia [*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry] (Silva *et al.* 2014), mostraram-se eficazes no manejo de doenças em plantas.

Fungos como *Aspergillus flavus* Link, *Neurospora sitophila* Shear & B.O. Dodger e *Penicillium digitatum* (Pers.) Sacc., são completamente inibidos pelo óleo essencial de capim-limão (Sonker *et al.* 2015). No manejo da antracnose da bananeira, dos cinco óleos avaliados *in vitro* contra *C. musae*, a inibição completa do crescimento micelial foi relatada com óleo de cravo-da-Índia em todas as concentrações testadas (0,5; 1,0 e 2,0%) e óleo de eucalipto a 2,0% (Jagana *et al.* 2018).

A eficácia *in vitro* dos óleos essenciais de oito espécies de plantas foi testada em taxas de aplicação de 100, 250, 500, 1000, ou 2000 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$. Os resultados mostraram uma redução de 100% no crescimento de micélio de *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Phytophthora* sp., *Botryosphaeria* sp. após a aplicação do óleo essencial de tomilho em todas as concentrações testadas (Sarkhosh *et al.* 2018).

As propriedades antifúngicas e antiaflatoxigênicas do óleo essencial de *Thymus vulgaris* L. (tomilho) foram avaliadas sobre *A. flavus* *in vitro* em concentrações variando de 50 a 500 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. A atividade inibitória do óleo ocorreu em uma concentração de 250 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ e a inibição da biossíntese do ergosterol foi detectada na concentração de 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Em relação à estrutura morfológica de *A. flavus* analisada por MEV, foram observadas alterações na estrutura das hifas, diminuição do conteúdo citoplasmático e modificações da integridade da membrana celular (Kohiyama *et al.* 2015).

O óleo essencial de *L. alba* (Mill) N.E. Brown sobre *A. flavus* a inibição micelial foi constatada a 0,28 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$. O óleo era fungicida (MIC) a 0,14 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ e fungistático a 0,28

$\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Pandey *et al.* 2016). O óleo essencial de *Mentha arvensis* L. contra *A. flavus* a concentração inibitória mínima (CIM) foi de $400\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ e exibiu ampla atividade fungitóxica contra outros 14 fungos de armazenamento (Kumar *et al.* 2009).

Óleos essenciais de orégano, canela e capim-limão foram testados em saquetas e óleo essencial puro *in vitro* contra os fungos fitopatogênicos *Alternaria alternata*, *Fusarium semitectum*, *Lasioidiplodia theobromae* e *Rhizopus stolonifer* que infectam o mamão, no final, foi constatado que houve maior redução nos microrganismos ao final do período de armazenamento (Spitia *et al.* 2012).

O óleo essencial de *Cupressus sempervirens* extraídos nas fases vegetativa, floração e frutificação e seus componentes bioativos foram testados no controle de *Botrytis cinerea*. A atividade *in vitro* contra *B. cinerea* mostraram que óleos essenciais inibem o crescimento dos micélios e também que a pulverização com óleos essenciais em frutos de tomate (1 mg/mL) inibiu 54% da infecção por *B. cinerea* (Rgueza *et al.* 2018).

Tomilho (0,1%) e limão (*Citrus aurantifolia*) (0,5%) reduziram a incidência da doença no mamão (Bosquez-Molina *et al.* 2010). O aroma inerente e a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais são comumente relacionados à estrutura química de seus componentes, à concentração na qual os componentes estão presentes e às interações entre eles que afetam suas propriedades bioativas (Girardi *et al.* 2018).

2.6. Mecanismos de ação dos óleos essenciais em micro-organismos

As propriedades antimicrobianas dos óleos essenciais devem-se a sua característica lipofílica (Bakkali *et al.* 2008), facilmente permeáveis através da parede celular e da membrana plasmática (Raut e Karuppaiyl, 2014). A hidrofobicidade do óleo essencial permite uma interação entre o óleo e os lipídeos da membrana celular, interferindo na sua permeabilidade e causando alterações em sua estrutura. A atividade é atribuível à natureza hidrofóbica dos óleos essenciais que causam a perda da integridade da membrana e o vazamento de material celular (Dambolena *et al.* 2008; Dambolena *et al.* 2010).

Nas bactérias, o mecanismo de ação pode ocorrer, em alguns casos, pela ação oxidante dos constituintes dos óleos, resultando na danificação da membrana celular, perda de íons e conteúdo celular, (Saad *et al.* 2013) desnaturação de proteínas (Nieto 2017) e inativação de enzimas celulares que levam à morte das células bacterianas (Burt 2004). Em fungos, atividades

antifúngicas dos óleos essenciais estão relacionadas à desintegração de hifas devido aos compostos mono e sesquiterpênicos presentes nos óleos essenciais (Pandey *et al.* 2017).

Os óleos essenciais amplificam a permeabilidade da membrana causando inchaço da membrana, reduzindo sua função (Dorman e Deans 2000). Alterações morfológicas nas hifas, interrupção e destruição das membranas plasmáticas e mitocondriais foram relatadas em estudos de Rasooli *et al.* (2006). Logo, a propriedade lipofílica dos óleos essenciais lhes permite penetrar nas paredes celulares e afetar as enzimas envolvidas na síntese da parede celular, alterando as características morfológicas dos fungos (Cox *et al.* 2000), no qual interferem nos processos fisiológicos e bioquímicos dos micro-organismos (Burt 2004). Considerando a diversidade de substâncias encontradas nas plantas e a possibilidade de se encontrar novas moléculas são necessários estudos sobre o potencial destas substâncias na agricultura (Celoto 2008).

2.7.O gênero *Piper*

A família Piperaceae compreende cerca de 10 gêneros e 1400 espécies. O gênero *Piper* é o mais representativo, com mais de 700 espécies, distribuídas em todas as regiões tropicais, das quais mais de 170 ocorrem no Brasil (Yuncker, 1972 apud Silva *et al.* 2013). As Piperaceae apresentam inflorescência em espigas simples, mas em alguns casos podem ser compostas do tipo umbelas ou racemo. Quanto à posição das inflorescências, podem ser opostas às folhas, axilares ou terminais. As suas espécies podem se apresentar como ervas, arbustos, sub-arbustos ou lianas (Araújo *et al.* 2012).

Na medicina popular brasileira, algumas espécies de *Piper* são comumente usada na forma de infusão para tratar de cólicas intestinais, diarreia, náusea, dor de dente, dores reumáticas e musculares, picadas de mosquitos e gonorreia, repelente, adstringente, hemostático, digestivo e diurético (Andrade *et al.* 2009). Os estudos investigando os inúmeros compostos químicos contidos nos óleos essenciais e extratos vegetais demonstraram atividade biológicas interessantes incluindo efeitos psicotrópicos (Moreira *et al.* 2001), antimicrobianos (Bastos e Albuquerque, 2004; Nascimento *et al.* 2008; Zacaroni *et al.* 2009) e inseticida (Lima *et al.* 2009), entre outras propriedades.

Recentemente a Embrapa Amazônia Ocidental vem desenvolvendo pesquisas com várias espécies medicinais, incluindo *Piper aduncum* L. (pimenta-de-macaco), *Piper callosum* Ruiz & Pav. (Óleo elétrico), *Piper hispidinervium* C. DC. (Pimenta-longa), *P. hispidum* Sw e *P. marginatum* Jacq com vistas a determinar tecnologia de cultivo que proporcione produtos, como óleos essenciais, de alta qualidade (Silva *et al.* 2013). Os óleos essenciais de algumas

espécies do gênero *Piper* apresentam na sua composição o safrol (*Piper hispidinervum*), o dilapiol (*Piper aduncum*) (Fazolin *et al.* 2007; Sauter *et al.* 2012; Negreiro *et al.* 2017) e o α -copaeno e 3,4-(metilenodioxi) propiofenona (*P. marginatum*) (Nascimento 2011) são compostos frequentemente encontrados nos óleos essenciais como o componente principal.

2.8.O gênero *Lippia*

O gênero *Lippia*, o segundo maior da família Verbenaceae é representando por aproximadamente 200 espécies de ervas, arbustos e pequenas árvores encontradas em regiões tropicais e subtropicais, cujos maiores centros de dispersão se encontram em países das Américas do Sul e Central e da África tropical (Gomes *et al.* 2011). Destas espécies, *L. alba* (erva cidreira ou falsa melissa), *Lippia sidoides* Cham. e *L. gracilis* Shauer são as mais conhecidas e utilizadas devido as suas propriedades medicinais.

As espécies de *Lippia* vêm sendo exploradas em diversas áreas do conhecimento, como em microbiologia, parasitologia, zootecnia e aquicultura devido ao seu reconhecido potencial biotecnológico (Soares *et al.* 2013), com propriedade larvicida (Carvalho *et al.* 2003), citotóxica (Costa *et al.* 2001), antifúngica (Girard *et al.* 2018) e nematicida (Santos *et al.* 2012).

Botelho *et al.* (2007) mostraram que *Candida albicans* era suscetível ao óleo essencial de *L. sidoides*, timol puro e carvacrol. Óleos essenciais de *L. sidoides* e *L. gracilis* nas concentrações 0,2; 0,5; 1,0; 3,0 $\mu\text{L mL}^{-1}$ foram investigados no controle in vitro de *Thielaviopsis paradoxa*. O crescimento micelial e um número de conídios foram inibidos pelo óleo essencial de *L. sidoides* em todas as concentrações testadas (Carvalho *et al.* 2013).

Souza Jr. *et al.* (2009) usou o óleo essencial de *L. sidoides* para controlar o *Colletotrichum gloeosporioides* isolado do maracujá, obtendo 100% de inibição do crescimento micelial. O óleo essencial de *L. gracilis* controlou os fungos *Aspergillus niger* e *Penicillium* sp., na concentração de 126 $\mu\text{L.mL}^{-1}$. Os resultados mostraram possibilidade de utilização dos óleos essenciais de *Lippia* como controle alternativo de fungos (Oliveira *et al.* 2008).

O óleo essencial de *L. alba* demonstrou atividade antibacteriana contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella choleraesuis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Listeria innocua* (Machado *et al.* 2014). Glamočlija *et al.* (2011) relataram atividade antifúngica contra gêneros de *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. e *Tricho-*

derma sp. e também demonstraram alta eficiência do óleo essencial contra estes fungos fitopatogênicos. Souza *et al.* (2018) demonstraram que *Fusarium* spp., teve percentual de inibição do crescimento micelial reduzido acima de 88,5%.

A atividade biológica dos óleos essenciais está comumente relacionada com a composição química. Em geral, os constituintes majoritários relatados com maior frequência na literatura para *L. alba* são os quimiotipos contendo citral, carvona e linalol e os flavonóides mais importantes e diversificados entre as espécies de *Lippia*, com relativa frequência em espécies desse gênero (Gomes *et al.* 2011).

L. gracilis, popularmente conhecido como "alecrim-de-tabuleiro", é um típico arbusto comumente cultivado no Nordeste do Brasil. Esta espécie produz um óleo essencial rico em timol e carvacrol, que possui uma potente atividade antimicrobiana contra fungos e bactérias (Bitu *et al.* 2012).

L. alba, popularmente conhecida como erva-cidreira, é uma planta nativa do Sul América, rica em óleo essencial, é uma das espécies de plantas medicinais encontradas no Brasil, e é amplamente empregada devido às suas propriedades biológicas (Hennebelle *et al.* 2008). No entanto, também tem atividade antimicrobiana e fungicida associada aos seus óleos essenciais, afetando vários microrganismos (Zétola *et al.* 2002).

L. sidoides (alecrim-pimenta, alecrim-do-nordeste e estrepa-cavalo) é um arbusto caducifólio, ereto, bastante ramificado e quebradiço, de 2-3 m de altura, próprio da vegetação do semi-árido nordestino do Brasil (Lorenzi e Matos 2002). O óleo essencial obtido das folhas dessa planta possui uma ampla diversidade química, tendo como principal componente o timol, com teor variando entre 34,2 a 95,1% em várias determinações (Leal *et al.* 2003).

Nesse contexto, considerando a diversidade de espécies vegetais encontradas no Brasil e a comprovada eficácia na literatura dos óleos essenciais, o uso dessas substâncias seria de grande vantagem para o desenvolvimento de novos produtos para o controle de doenças de plantas (Tomazoni *et al.* 2016).

3. OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito fungitóxico dos óleos essenciais de *Lippia sidoides*, *L. gracilis*, *L. alba*, *Piper hispidium*, *P. hispidinervum*, *P. callosum*, *P. marginatum* e *P. aduncum* no controle alternativo a *Colletotrichum theobromicola* agente causador da antracnose da cebolinha (*Allium fistulosum* L.).

3.1. Objetivos específicos

- ✓ Identificar os componentes majoritários dos óleos essenciais de *Lippia sidoides*, *L. gracilis*, *L. alba*, *Piper hispidium*, *P. hispidinervum*, *P. callosum*, *P. marginatum* e *P. aduncum* por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/MS);
- ✓ Avaliar o efeito de diferentes concentrações dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial, germinação de conídios e na ultraestrutura das hifas de *C. theobromicola*;
- ✓ Avaliar o efeito dos óleos essenciais na incidência e na severidade da antracnose na cebolinha (*Allium fistulosum* L.);
- ✓ Avaliar o efeito dos óleos essenciais no crescimento e desenvolvimento da cebolinha (*Allium fistulosum* L.).

4. MATERIAL E MÉTODOS

A primeira etapa das pesquisas foi desenvolvida no laboratório Central de Análise Química da Universidade Estadual do Amazonas (UEA), onde foi realizada a identificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais. A segunda etapa foi desenvolvida no laboratório de fitopatologia do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA III) onde foi avaliado *in vitro* o efeito dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial e germinação de conídios de *C. theobromicola* e no laboratório temático de microscopia óptica e eletrônica foram realizadas as micrografias. A terceira etapa foi realizada em casa de vegetação do Campus III do INPA.

4.1. Obtenção dos óleos essenciais

Na avaliação da atividade antifúngica *in vitro* foram utilizados oito óleos essenciais das espécies: *L. sidoides*, *L. gracilis*, *L. alba*, *P. hispidium*, *P. hispidinervum*, *P. callosum*, *P. marginatum* e *P. aduncum*. Todas as amostras dos respectivos óleos foram fornecidas pelo Laboratório de Plantas medicinais e Fitoquímica coordenado pelo Dr. Francisco Célio Maia Chaves da Embrapa Amazônia Ocidental. Os óleos foram obtidos por hidrodestilação e a extração realizada no aparelho tipo Clevenger, onde após a extração foram colocados em frascos de vidro (âmbar), vedados com papel alumínio e armazenados em geladeira a 4°C até as análises e testes.

4.2. Análise química dos óleos essenciais

Os óleos essenciais de *L. sidoides*, *L. gracilis*, *L. alba*, *P. hispidium*, *P. hispidinervum*, *P. callosum*, *P. marginatum* e *P. aduncum* foram analisados em um cromatógrafo a gás Agilent Technologies 7890b (CG System). Foi utilizado hélio como gás de arraste com a velocidade de 1,8 mL min⁻¹; taxa de Split 20:1 com volume injetado de 0,5 µL. A temperatura do injetor foi 290 °C, respectivamente. A rampa de aquecimento foi de 35-1, taxa de aquecimento 10 °C/min com temperatura final de 280 °C. Em todas as análises a energia do feixe de elétrons foi de 70 eV. Os componentes majoritários foram calculados pelo Método de Quantificação por Porcentagem em área.

4.3. Teste de patogenicidade

O isolado INPA 1809 (*C. theobromicola*), que encontrava armazenado pelo método Castellani na Coleção de Micro-organismos de Interesse Agrossilvicultural do INPA, foi utilizado nesse estudo. O mesmo foi repicado em placas de Petri contendo 20 mL de meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar), preparado com 200 g de batata, 20 g de dextrose e 20 g de ágar por litro de água (Alfenas e Mafia, 2016). Em seguida, as placas foram vedadas e mantidas por um período de sete dias em temperatura ambiente (25 ± 2 °C), sob luz contínua para estimular a produção de conídios. Uma suspensão de 10^6 conídios mL⁻¹ de *C. theobromicola* foi inoculada nas mudas sadias de cebolinha e como testemunha foi borrifada apenas água destilada estéril no tecido foliar. Em seguida, foram mantidas em câmara úmida 70 ± 2 UR% a 30 ± 2 °C por vinte e quatro horas em casa de vegetação. Após 48 horas da inoculação foi realizada a avaliação das mesmas baseando-se na ausência ou presença de sintomas. Após o período de avaliação foi realizado reisolamento direto do fungo em meio BDA com acréscimo de 100 mg. L⁻¹ do antibiótico Ampicilina para evitar contaminação por bactéria. Após o crescimento do fungo reisolado em BDA, o mesmo foi identificado e confirmado o teste de patogenicidade.

4.4. Inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum theobromicola* submetido aos óleos essenciais

As culturas obtidas do reisolamento do teste de patogenicidade foram repicadas em placas de Petri de 90 x 15 mm contendo meio de cultura BDA. Para verificar o efeito dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial do fitopatógeno, os óleos essenciais de *L. sidoides*, *L. gracilis*, *L. alba*, *P. hispidium*, *P. hispidinervum*, *P. callosum*, *P. marginatum* e *P. aduncum*, foram individualmente, nas concentrações (0, 0,1; 0,2; 0,5; e 1%) e o agente emulsificante Tween 80 (0,1%) adicionados ao meio BDA fundente com temperatura máxima de 45 °C e, em seguida, a mistura foi vertida em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. Após a solidificação do meio de cultura, das bordas das colônias de *C. theobromicola* com aproximadamente 11 dias de idade, um disco de 9 mm de diâmetro de BDA contendo micélio do fungo foi colocado no centro das placas. As placas foram vedadas com filme plástico PVC, identificadas e incubadas à temperatura de 25 °C (Grigoletti Júnior e Lau, 1999).

As avaliações iniciaram 24 horas após a repicagem e prosseguiram durante sete dias (momento em que as colônias fúngicas do tratamento controle atingiu as bordas das placas de Petri). Com estas avaliações calculou-se a percentagem de inibição do crescimento micelial

(PIC), comparando-se o diâmetro médio, em cm, entre as colônias dos tratamentos com a testemunha, após sete dias de incubação (Bastos 1997).

$$PIC = \frac{DTe - DTr}{DTe} * 100$$

Em que: PIC = Porcentagem de Inibição de Crescimento; DTe = diâmetro da testemunha e DTr = diâmetro do tratamento.

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 x 5 (cinco espécie de *Piper* spp.) e 3 x 5 (três espécies de *Lippia* spp.) ambos com cinco concentrações (0, 0,1; 0,2; 0,5; 1%) e cinco repetições, onde cada placa de Petri consistiu em uma unidade experimental.

Os dados foram submetidos à análise de Shapiro Wilk para investigar a normalidade dos resíduos e teste de Levene para aferir a homogeneidade de variâncias. Em seguida, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e análise de regressão, cuja diferença entre as médias dos tratamentos foi testada por meio do teste de Tukey a 5% de significância realizada com o auxílio do software estatístico Sisvar ® (Ferreira 2008).

4.5. Efeito dos óleos essenciais na germinação de conídios de *Colletotrichum theobromicola*

Para verificar a influência dos óleos essenciais na germinação de conídios de *C. theobromicola*, adicionou-se uma alíquota de 40 µL da suspensão 1×10^6 conídios mL⁻¹ do patógeno, individualmente, em cavidades de placas de ELISA. Na sequência, concentrações 0, 0,1; 0,2; 0,5; e 1% dos respectivos óleos essenciais foram acrescentadas em cada cavidade da placa. As placas ELISA foram mantidas em câmara úmida em BOD à 22 °C ± 2 °C, com fotoperíodo de 12 h, durante 24 horas. Após esse período, efetuou-se a paralisação da germinação dos conídios com a adição de 20 µL de lactofenol (Regente *et al.* 1997). A avaliação foi realizada por meio da contagem de 100 conídios por repetição em microscópio óptico com aumento de 400 vezes. Foram considerados conídios germinados quando o comprimento do tubo germinativo

atingiu, pelo menos, 1/3 do diâmetro do conídio. Com estas avaliações calculou-se a percentagem de inibição da germinação de conídios (PIG) por meio da fórmula usada por Brito e Nascimento (2015) apresentada a seguir:

$$PIG = \frac{GT - GT_r}{DT} * 100$$

Em que: PIG = Percentagem de germinação de conídios; GT = Germinação da testemunha; GT_r = Germinação do tratamento.

Os experimentos foram conduzidos igual ao item 4.5.

4.6. Avaliação do efeito dos óleos essenciais na morfologia de hifas de hifas de *Colletotricum theobromicola* por microscopia eletrônica de varredura.

Fragmentos de 3 mm x 3 mm do meio de cultura contendo a massa micelial do fungo submetidos a 1% dos respectivos óleos essenciais foram levadas ao microscópio eletrônico de varredura (MEV) para visualização das alterações na estrutura das hifas. Para tanto, as amostras foram pré-fixadas em glutaraldeído 2,5% (Sigma Chemical, St Louis, MO, EUA) (9:1, v/v.) por no mínimo 2 h e após submetidas à desidratação, permanecendo por um período de 10 a 15 minutos em álcool etílico nas concentrações de 50%, 70%, 90%, 95% e 100%. Nesta última, o procedimento foi realizado 2 vezes. As amostras fixadas e completamente desidratadas foram levadas ao equipamento de Ponto Crítico CPD-030. As amostras secas foram montadas nos porta-amostras do MEV com o auxílio da fita de carbono dupla face e posteriormente submetidas à metalização com ouro e posteriormente analisadas no Microscópio Eletrônico de Varredura LEO 435 VP (Soylu *et al.* 2006).

4.7. Efeito dos óleos essenciais in vivo sobre a antracnose da cebolinha

O trabalho foi realizado em Manaus – AM na casa de vegetação do Campus III do INPA no período de setembro a dezembro de 2018. O experimento foi instalado em casa de vegetação de 30 m x 4,6 m, com laterais abertas, cobertura de filme de polietileno transparente.

Mudas de cebolinha da cultivar Todo Ano foram obtidas de agricultores da região. No total de três mudas de cebolinhas foram transplantadas em vasos plásticos com capacidade de 5 kg, contendo uma mistura de terra e esterco de galinha curtido (4:1). Os vasos foram distribuídos inteiramente ao acaso e aos 15 dias do transplante foi realizada adubação foliar com adubo comercial Plantafol (3g L⁻¹). A irrigação foi realizada todos os dias pela manhã de forma manual.

Após trinta dias do transplante, quando as plantas estavam bem desenvolvidas, realizou-se uma primeira aplicação dos tratamentos de forma preventiva, sendo T1 (água destilada); T2 (somente suspensão de esporos); T3 (Tiofanato metílico - fungicida de amplo espectro); T4 (óleo essencial de *L. sidoides*); T5 (óleo essencial de *L. gracilis*); T6 (óleo essencial de *L. alba*); T7 (óleo essencial de *P. hispidinervum*); T8 (óleo essencial de *P. marginatum*) e T9 (óleo essencial de *P. aduncum*). As aplicações com os respectivos tratamentos foram realizadas a cada semana, no total de quatro aplicações.

O experimento obedeceu ao experimento inteiramente casualizado com cinco repetições por parcela (quatro) totalizando 180 plantas. Os óleos essenciais a 1%, inicialmente, foram diluídos em água destilada esterilizada com agente emulsificante Tween 80 a 0,5%. As plantas foram pulverizadas com os tratamentos utilizando-se pulverizador EXPORT manual (capacidade de 370 ml) até o ponto de escorrimento.

Após 48 horas procedeu-se a inoculação de esporos de *C. theobromicola*, nas cebolinhas. Para isto preparou-se uma suspensão de conídios. Placas de Petri, contendo culturas de *C. theobromicola*, com 15 dias de idade, foram utilizadas para a obtenção da suspensão de conídios. Em cada placa, adicionaram-se 10 mL de água destilada e esterilizada e, com o auxílio de uma alça de Drigalski, raspou-se a superfície do meio de cultivo para a liberação dos conídios das hifas. O extrato obtido foi filtrado em dupla camada de gaze para a obtenção da suspensão de conídios a qual foi ajustada para a concentração de 1×10^6 conídios/mL. Em seguida, fez-se a inoculação do patógeno nas plantas. Quatro dias amostras foliares foram levadas para o laboratório para confirmação dos sinais do patógeno.

As avaliações da severidade da doença foram realizadas aos 5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias após a inoculação, nos períodos da manhã, enquanto que, a avaliação da incidência foi realizada aos 30 dias após a aplicação com os respectivos tratamentos. A incidência da doença foi calculada conforme a equação abaixo:

$$\text{Incidência da doença} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de plantas doentes}}{\text{n}^\circ \text{ total de plantas}} * 100$$

A avaliação da severidade da doença foi realizada por meio da escala de notas adotada por Santana (2015) composta por cinco notas de severidade, conforme a tabela 1. A doença foi avaliada em três folhas centrais. As características avaliadas foram presença de sinais e lesões nas folhas. Os dados para severidade da doença foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos foi testada por meio do teste de Tukey a 5% de significância realizada com o auxílio do software estatístico Sisvar ® (Ferreira 2008).

Tabela 1. Escala de nota para avaliar a severidade da antracnose em cebolinha causada por *Colletotrichum* sp.

Nota	Descrição
1	Folhas limpas ou apresentando pontos cloróticos
2	Pequenas lesões cloróticas-necróticas nas pontas, presença de acérvulos
3	Lesões cloróticas-necróticas maiores, presença de acérvulos
4	Lesões necróticas em 50% da área foliar com acérvulos
5	Lesões necróticas em 70% da área foliar com acérvulos

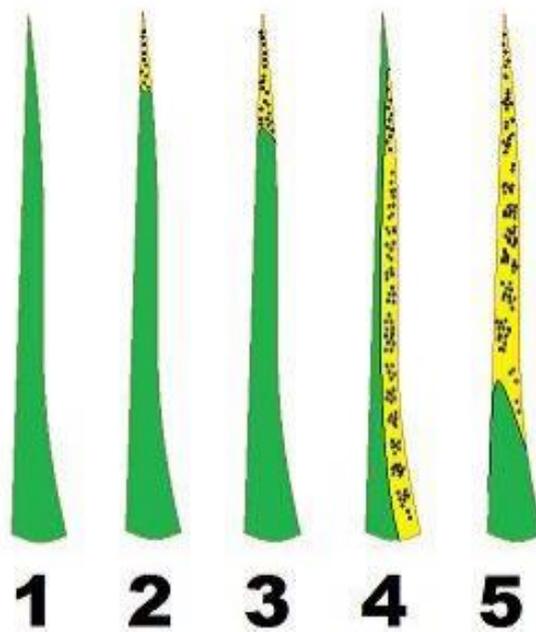


Figura 1. Escala Diagramática para avaliação da severidade da antracnose em cebolinha (*Allium fistulosum* L.) causada por *Colletotrichum* spp (Santana 2015).



Figura 2: Experimento em casa de vegetação

4.8. Análise biométrica e da biomassa das cebolinhas

Após as avaliações em campo do efeito dos óleos essenciais na incidência e severidade da antracnose da cebolinha, foi realizada a colheita. As plantas foram lavadas e expostas a temperatura ambiente para pré-secagem. Após a pré-secagem foi avaliado o comprimento das folhas com uma régua milimétrica. Em seguida, para obtenção de massa seca, as folhas inseridas em saco de papel e identificados, e encaminhados para estufa a 65 °C. As mesmas foram avaliadas diariamente até a obtenção de massa constante, com posterior pesagem em balança eletrônica.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com nove tratamentos e cinco repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as diferenças entre as médias dos tratamentos foi testada por meio do teste de Tukey a 5% de significância realizada com o auxílio do software estatístico Sisvar ® (ferreira 2008).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Identificação dos componentes majoritários dos óleos essenciais de *Piper* spp.

Os componentes majoritários dos óleos essenciais de *Piper* spp., são mostrados nos cromatogramas abaixo conforme a ordem de elucidação do perfil cromatográfico. Os óleos essenciais das diferentes espécies do gênero *Piper*, analisados por cromatografia em fase gasosa acoplada a um espectrometro de massa (CG/MS), apresentaram grande variedade entre seus constituintes e estão de acordo com a literatura. Em *P. aduncum* o componente majoritário detectado por CG-MS foi o apiol (92,83%), seguido por cariofileno (2,61%), β -Pinenos (1,44%) e miristicina (1,13%). O restante dos constituintes identificados obteve valores abaixo de 1%.

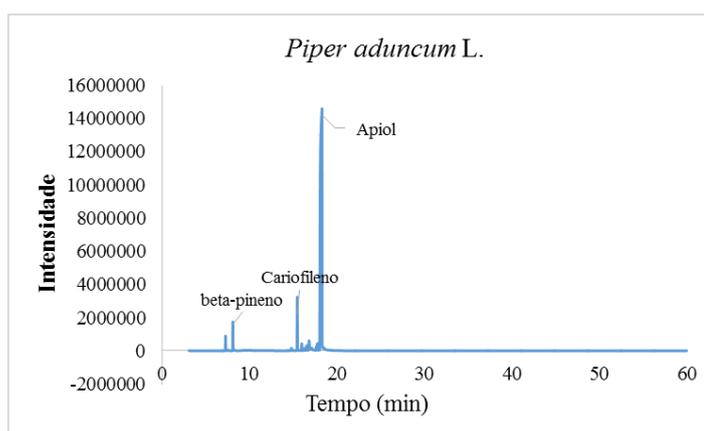


Figura 3. Componentes majoritários presentes no óleo essencial de *Piper aduncum* analisado por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massa CG/MS.

Alguns trabalhos detectaram proporções diferentes dos componentes majoritários de *P. aduncum*, como nos trabalhos de Silva *et al.* (2013) que constataram teor de dilapiol superior a 85% e outros compostos como mirceno, cis-ocimeno, β -cariofileno e miristicina, já Souza *et al.* (2009) encontraram 88,9% de dilapiol e Valadares *et al.* (2018) que avaliaram a composição química do óleo essencial desta espécie oriunda de Minas Gerais detectaram os componentes piperitona (23,4%), miristicina (12,4%), terpinen-4-ol (12,3%), β -cariofileno (7,2%), α -humuleno (6,9%), germacreno-D (6,9%) e dilapiol (6,3%) como principais constituintes encontrados nos óleos de *P. aduncum*. Segundo Maia *et al.* (1998), o óleo essencial de *P. aduncum* apresenta excelente rendimento (2,5 a 3,5%) e é rico em dilapiol com porcentagens que varia de 31,5 a 91,1% na constituição química do óleo.

Para as espécies *P. hispidinervum* e *P. callosum* foram identificados como componentes majoritários o fenilpropanóide safrol como constituinte presente em maior quantidade no óleo, com percentuais correspondentes a (79,96%) e (83,61%), respectivamente. Estes resultados aproximam-se com os descritos na literatura, pois as pesquisas mostram que na região amazônica o óleo essencial de pimenta-longa é constituído por mais de 90% de safrol (Lima *et al.* 2009). Machado *et al.* (2013) detectaram mais de 90% do componente safrol no óleo essencial de pimenta-longa e resultados próximos a este trabalho foram obtidos por Maia *et al.* (1987) (82%); e Lima *et al.* (2009b) (82,0%) e em baixas concentrações o α -pineno (0,6%), δ -3-careno (1,4%) e α -terpinoleno (13,5%).

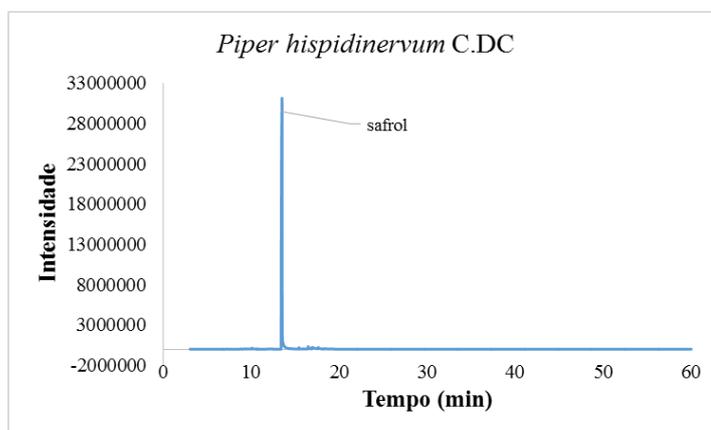


Figura 4. Componentes majoritários presentes no óleo essencial de *Piper hispidinervum* analisado por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massa CG/MS

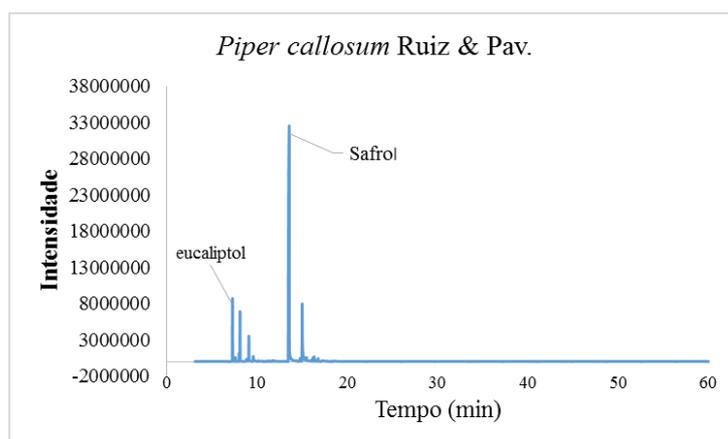


Figura 5. Componentes majoritários presentes no óleo essencial de *Piper callosum* analisado por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massa CG/MS.

A composição química dos óleos essenciais varia conforme as espécies. Em estudo, *P. hispidum* o m-cimeno (56,53%) e o γ -terpineno (26,88%) foram os compostos mais abundantes. Chaves *et al.* (2013), constataram como constituintes majoritários o α -terpineno (34,2%), seguido do p-cimeno (17,1%), terpinoleno (8,0%) e α -selineno (6,3%). Já Facundo *et al.* (2008), em análise do óleo essencial das raízes de *P. hispidum*, constataram como como constituintes majoritários o dilapiol (57,5%), a elemicina (24,5%) e o apiol (10,2%).

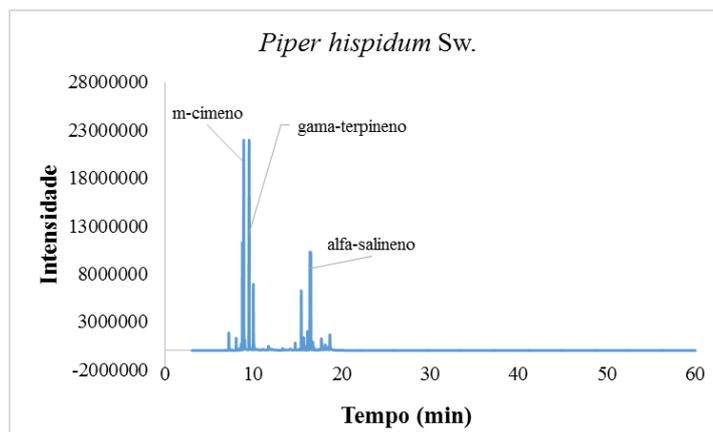


Figura 6. Componentes majoritários presentes no óleo essencial de *Piper hispidum* analisado por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massa CG/MS.

Os principais componentes detectados em *Piper marginatum* foram biciclo [4.1.0] hept-3-eno,3,7,7-trimetil (41,23%), β -cis-ocimene (11,38%), cariofileno (12,72%) e elimicina (25,6%). Estes resultados diferem do encontrado por Nascimento (2011), que detectou os componentes α -copaeno e 3,4-(metilendioxi) propiofenona como componentes mais abundantes no óleo.

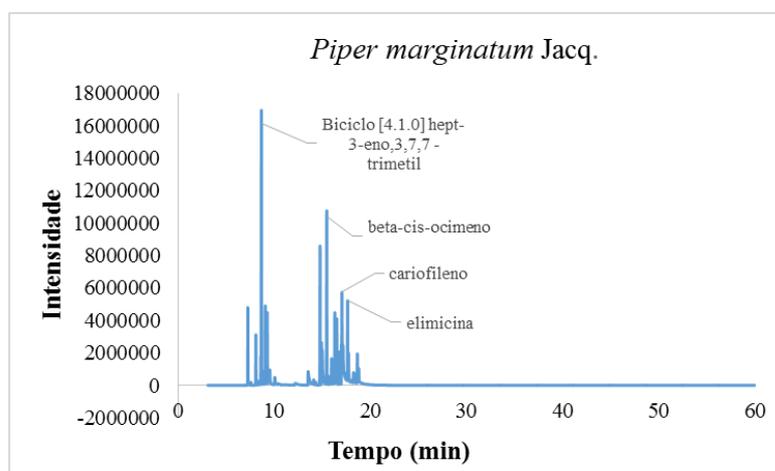


Figura 7. Componentes majoritários presentes no óleo essencial de *Piper marginatum* analisado por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massa CG/MS.

Verifica-se que os resultados quanto à composição química dos óleos essenciais não são uniformes. Isto pode ser atribuído à diversidade genética das espécies. Outros fatores que também podem ser considerados são: a idade foliar da planta, as variáveis ambientais e a forma de extração dos óleos essenciais (Facundo *et al.* 2008b). Algumas espécies do gênero *Piper*, são ricas em óleos essenciais com importantes atividades biológicas (Oliveira *et al.* 2013), são largamente encontradas na Amazônia e apresentam atividade biológica reconhecida, como fungicida (Bastos, 1997) e bactericida (Brazão *et al.* 2014), o que despertou o interesse na identificação de novos compostos destas espécies devido à diversas substâncias biologicamente ativas (Santos *et al.* 2010)

5.2. Identificação dos componentes majoritários do óleo essencial de *Lippia* spp.

Os resultados obtidos por CG/MS para os óleos essenciais das espécies de *Lippia* spp. estão apresentados nas figuras 8, 9 e 10. Para *L. alba* o majoritário foi o carvone com 96,2%. A espécie *L. alba* apresenta certa particularidade, uma vez que a composição química do óleo essencial difere quantitativa e qualitativamente, o que permite que elas sejam separadas em quimiotipos I, II e III, segundo Tavares *et al.* (2005).

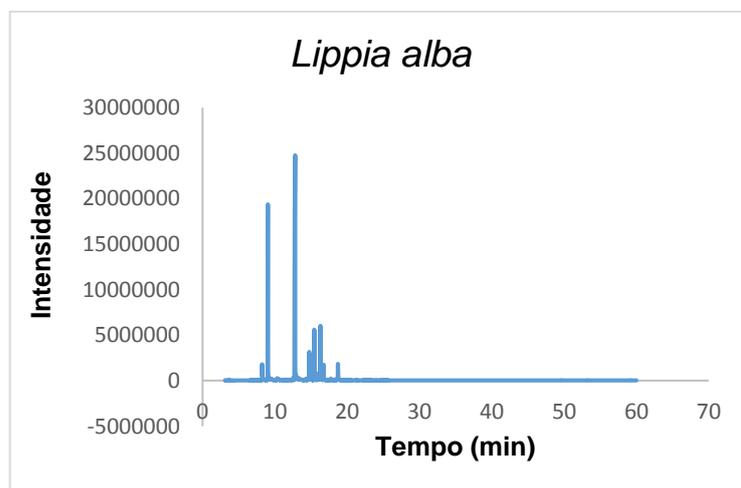


Figura 8. Componentes majoritários presentes no óleo essencial de *Lippia alba* analisado por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massa CG/MS

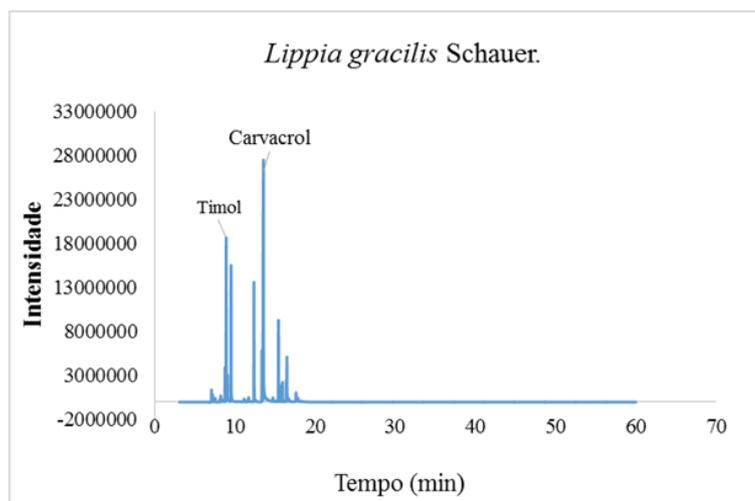


Figura 9. Componentes majoritários presentes no óleo essencial de *Lippia gracilis* analisado por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massa CG/MS.

L. gracilis apresentou como componentes majoritários ρ -Mentha-1,4(8)-diene (5,49%), timol (9,48%) e carvacrol (84,98%), respectivamente. Estes resultados está de acordo com os descritos na literatura, que comprovam os constituintes voláteis timol e carvacrol da espécie *L. gracilis*, como principais compostos do óleo essencial desta espécie (Gomes *et al.* 2011). Para *L. sidoides*, os principais constituintes foram o o-cimeno (29,99%), timol (14,55%), cineol (13,18%), cariofileno (12,52%), ρ -Mentha-1,3,8-trieno (6,68%), entre outros compostos com percentuais inferiores a 2%.

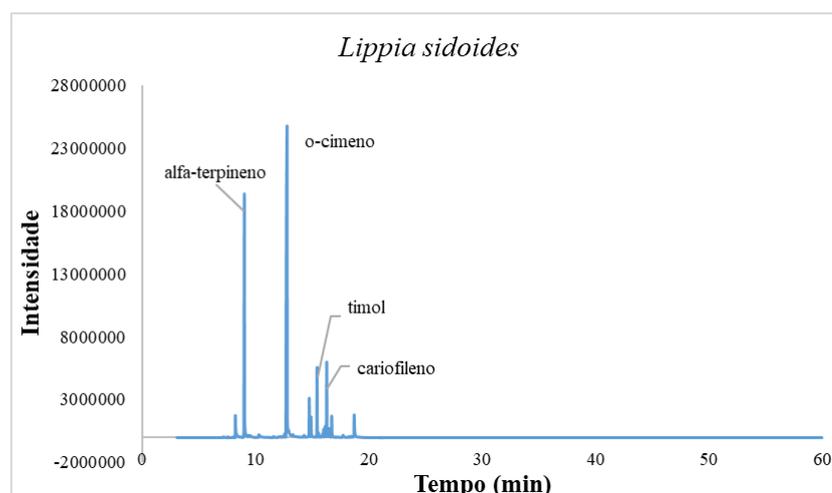


Figura 10. Componentes majoritários presentes no óleo essencial de *Lippia sidoides* analisado por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massa CG/MS.

5.3. Inibição do crescimento micelial de *Colletotricum theobromicola* submetido aos óleos essenciais de *Piper* spp.

Todos os óleos essenciais testados, independente das concentrações utilizadas apresentaram atividade inibitória sobre o crescimento micelial de *C. theobromicola*. No entanto, apenas os óleos das espécies *P. marginatum*, *P. hispidinervum* e *P. callosum* nas maiores concentrações 0,5% e 1% inibiu totalmente o crescimento micelial do patógeno, com valores de diâmetro das colônias de 0,90 cm. No tratamento controle o crescimento micelial obteve valores de diâmetro da colônia fúngica superior a sete cm de diâmetro, enquanto os tratamentos com as respectivas concentrações o crescimento micelial reduziu gradativamente conforme ao aumento da concentração (0,1; 0,2; 0,5 e 1%).

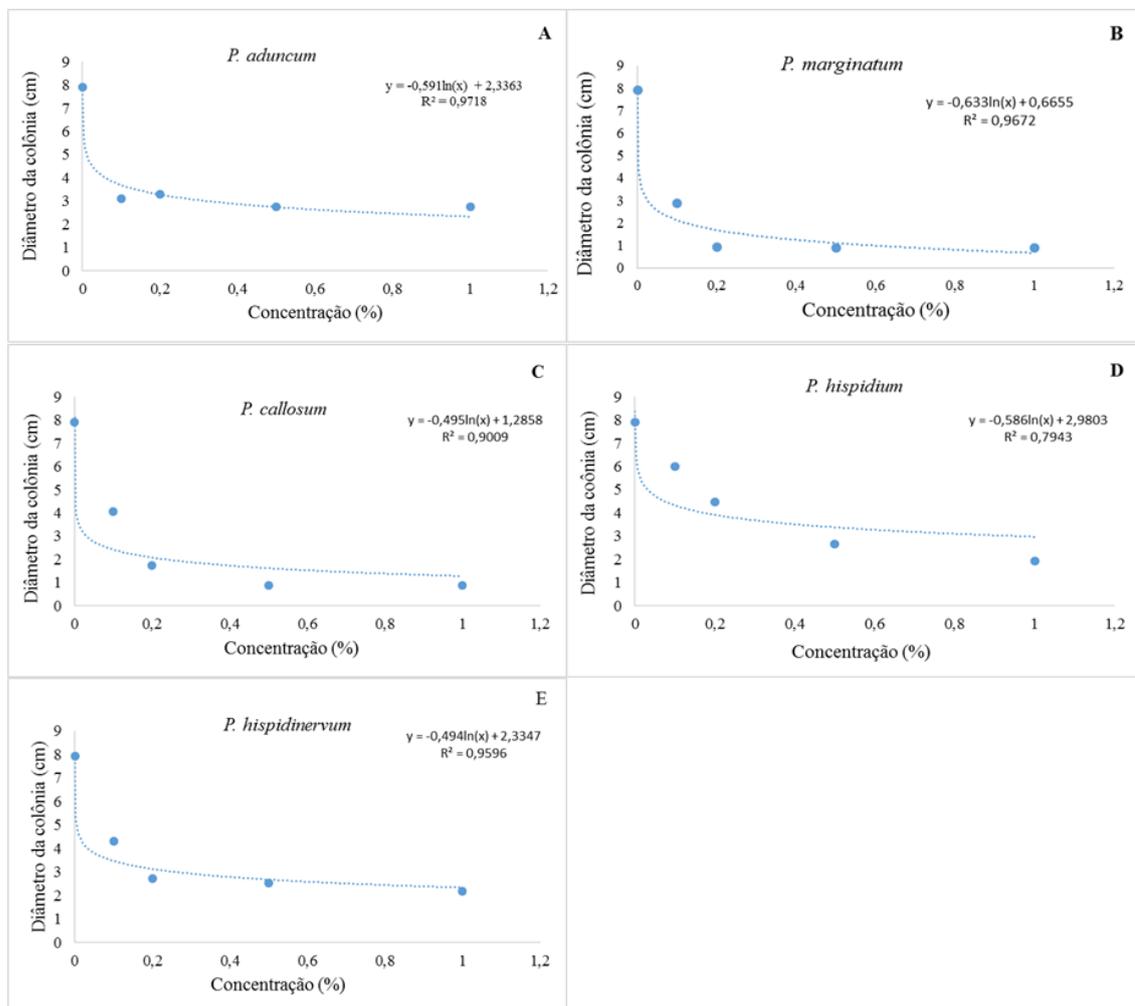


Figura 11. Análise de regressão da Inibição do crescimento micelial de *Colletotricum theobromicola* submetido a diferentes concentrações (0, 0,1; 0,2; 0,5; e 1%) dos óleos essenciais de *Piper* spp. **A** - *C. theobromicola* submetido ao óleo essencial de *Piper aduncum*; **B** - *C. theobromicola* submetido ao óleo essencial de *P. marginatum*; **C** - *C. theobromicola* submetido ao óleo essencial de *P. callosum*; **D** - *C. theobromicola* submetido ao óleo essencial de *P. hispidium*; **E** - *C. theobromicola* submetido ao óleo essencial de *P. hispidinervum*.

Esses resultados corroboram com os obtidos por Nascimento et al. (2006) que observaram uma tendência na redução da colônia de *Fusarium solani* f. sp. *glycines* quando submetido aos óleos de alecrim, anis, cedro e copaíba, nas doses 0, 25, 50, 75 e 100 µL/L. A tabela 2 mostra o diâmetro da colônia de *C. thebromicola* submetido a diferentes concentrações dos óleos essenciais após sete dias de avaliação. O fungo sob ação do óleo de *P. aduncum* nas concentrações 0,1%; 0,2% 0,5% e 1% apresentou diâmetro de colônia 3,1; 3,3; 2,7 e 2,7 cm, não diferindo significativamente entre as concentrações. As espécies *P. callosum*, *P. hispidinervum* e *Piper marginatum* a partir da concentração 0,2% o diâmetro da colônia reduziu a menos de 2 cm.

Tabela 2. Diâmetro da colônia de *Colletotricum thebromicola* submetido as concentrações de óleos essenciais de *Piper* spp.

Diâmetro da colônia (cm)					
Concentrações (%)	<i>Piper aduncum</i>	<i>Piper callosum</i>	<i>Piper hispidinervum</i>	<i>Piper hispidum</i>	<i>Piper marginatum</i>
0	7,92aA	7,92aA	7,95aA	7,95aA	7,92aA
0,1	3,10aB	4,07aB	1,62bB	5,99cB	2,87aB
0,2	3,31aB	1,75bC	1,07bB	4,49cC	0,94bC
0,5	2,75aB	0,90bD	0,90bB	2,66aD	0,90bC
1,0	2,76aB	0,90bD	0,90bB	1,94cD	0,90bC
CV %	9,36				

a, b – Para cada espécie, médias das concentrações seguidas da mesma letra minúscula não difere significativamente entre si; A, B – Para cada concentração, médias das espécies seguidas de mesma letra maiúscula não difere significativamente entre si; segundo o teste de Tukey a 5% de significância.

Ferreira et al. (2012), verificaram que os óleos vegetais de *Astrocaryum murumuru* Mart. (murmurú), *Oenocarpus bataua* Mart. (patauá) e *Mauritia flexouosa* L. (buriti) influenciaram no desenvolvimento de *Fusarium solani*, pois o patógeno obteve menor índice de crescimento micelial (IVCM), quando submetido ao meio de cultura contendo o óleo de (murmurú), com crescimento em média de 2,11 cm.dia⁻¹, seguido de patauá com 2,25 cm dia⁻¹.

Na pesquisa de Silva e Bastos (2007), a atividade fungitóxica do óleo essencial de 10 espécies de *Piper* coletadas na região Amazônica foi avaliada sobre o crescimento micelial, de *Moniliophthora pernicioso* (Stahel) Aime & Phillips – Mora, *Phytophthora palmivora* (Butler) Buther e *P. capsici*. Os óleos mais efetivos que inibiram em 100% o crescimento dos três fungos foram os de *P. callosum*, *P. marginatum* var. *anisatum* e *P. enckea*, nas concentrações de 0,75µL/mL e 1µL/mL.

Em relação ao percentual de inibição do crescimento micelial (PIC), no tratamento com o óleo essencial de *P. aduncum* nas diferentes concentrações (0,1; 0,2; 0,5 e 1%), verificou-se mais de 50% de inibição do fungo a partir da menor concentração, com valores percentuais de 60,84; 58,19%; 65,27% e 65,14%, respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si. Assim ocorreu para a espécie *P. marginatum* e *P. callosum* que a partir da concentração 0,2% a 1,0% apresentou inibição superior a 80%, também não diferindo estatisticamente os valores entre as concentrações.

Valadares *et al.* (2018) também constataram efeitos positivos utilizando o óleo de *P. aduncum*, em doses acima de 10 µL, seus valores de inibição estavam acima de 95% contra o fungo fitopatogênico *Sclerotinia sclerotiorum* obtendo os mesmos resultados com aplicação do fungicida comercial Frowncide 500 SC.

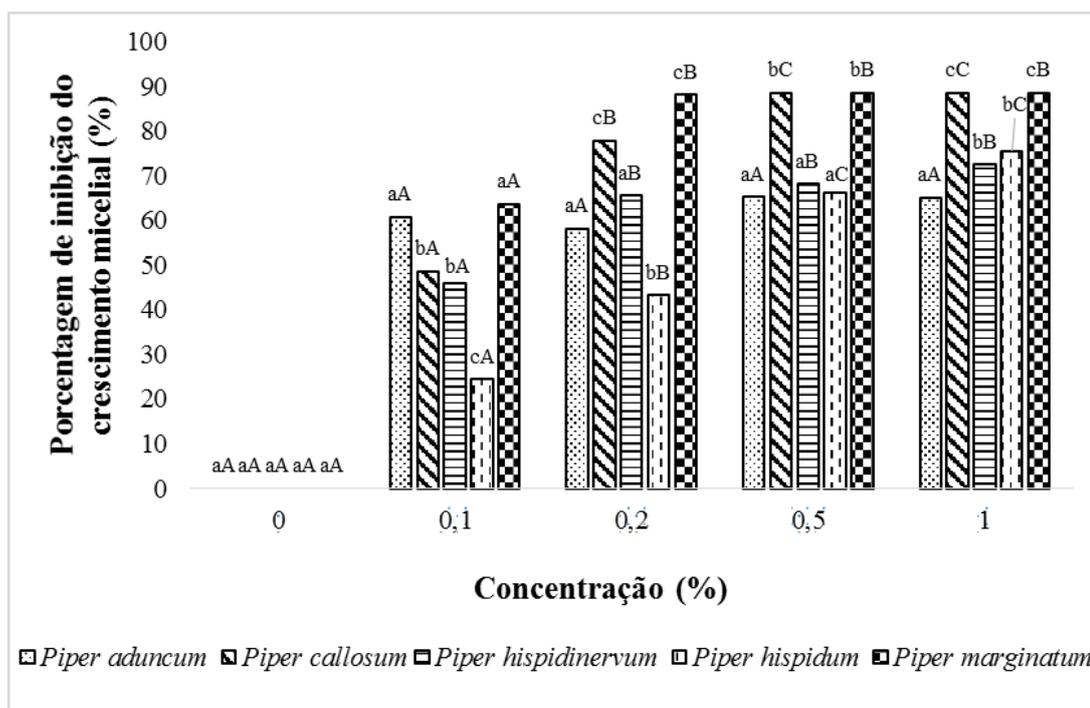


Figura 12. Percentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de *Colletotrichum theobromicola* submetido a diferentes concentrações (0, 0,1; 0,2; 0,5; e 1%) dos óleos essenciais de *Piper* spp. a, b – Para cada espécie, médias das concen concentrações seguidas da mesma letra minúscula não difere significativamente entre si; A, B – Para cada concentração, médias das espécies seguidas de mesma letra maiúscula não difere significativamente entre si; segundo o teste de Tukey a 5% de significância.

As espécies *P. hispidinervum* e *P. hispidum* o efeito antifúngico dos óleos essenciais apresentaram comportamento semelhantes, onde a concentração 1% demonstraram mais destaque, pois proporcionou inibição do crescimento superior a 70%. Morandim *et al.* (2010), relataram a alta atividade antifúngica dos óleos essenciais de *P. aduncum* e *P. tuberculatum* contra

o fungo *Cladosporium cladosporioides* (Fresenius) de Vries e *C. sphaerospermum* Penzing, na concentração 10 µg mL⁻¹. Os autores sugerem que a propriedade antimicrobiana do óleo é devido ao constituinte safrol, substância mais abundante no óleo.

A atividade antifúngica dos respectivos óleos essenciais pode ter sido influenciada pela presença de vários compostos químicos ou pela ação de um único composto presente nos óleos essenciais de *Piper* spp. Alguns autores associam o efeito fungitóxico ao constituinte presente em maior quantidade. Hanada *et al.* (2004) explicam que o efeito inibitório do óleo essencial de *P. hispidinervum* em *Mycosphaerella fijiensis* Morolet na inibição da germinação de conídios é devido à presença de componente safrol encontrado no óleo.

Tabela 3. Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) do crescimento micelial de *Colletotrchum. theobromicola* submetido a diferentes concentrações (0, 0,1; 0,2; 0,5; e 1%) dos óleos essenciais de *Piper* spp

Porcentagem de inibição do crescimento micelial (%)					
Concentrações (%)	<i>Piper aduncum</i>	<i>Piper callosum</i>	<i>Piper hispidinervum</i>	<i>Piper hispidum</i>	<i>Piper marginatum</i>
0	***	***	***	***	***
0,1	60,84aA	48,59bA	45,86bA	24,41cA	63,76aA
0,2	58,19aA	77,88cB	65,61aB	43,32bB	88,13cB
0,5	65,27aA	88,63bC	68,15aB	66,38aC	88,63bB
1,0	65,14aA	88,63cC	72,58bB	75,53bC	88,63cB
CV %	9,64				

a, b – Para cada espécie, médias das concentrações seguidas da mesma letra minúscula não difere significativamente entre si; A, B – Para cada concentração, médias das espécies seguidas de mesma letra maiúscula não difere significativamente entre si; segundo o teste de tukey a 5% de significância.

Diante destes resultados, alguns fatores importantes são levados em consideração para a utilização do óleo essencial de *Piper* spp., no manejo alternativo de doenças em plantas. Pois, estas espécies apresentam ocorrência espontânea na natureza; apresenta ciclo vegetativo relativamente curto, suporta solos ácidos e de baixa fertilidade, é de fácil propagação vegetativa, tem capacidade de adaptação a diferentes ambientes e apresenta um alto teor de óleo essencial em relação a outras espécies aromáticas (Gaia *et al.* 2010).

5.4. Inibição do crescimento micelial de *Colletotricum theobromicola* submetido aos óleos essenciais de *Lippia* spp.

Todos os óleos essenciais testados, independente das concentrações apresentaram atividade inibitória sobre o crescimento micelial de *C. theobromicola* quando submetidos aos óleos essenciais de *Lippia* spp. Os gráficos abaixo mostra a relação significativa entre concentração-crescimento.

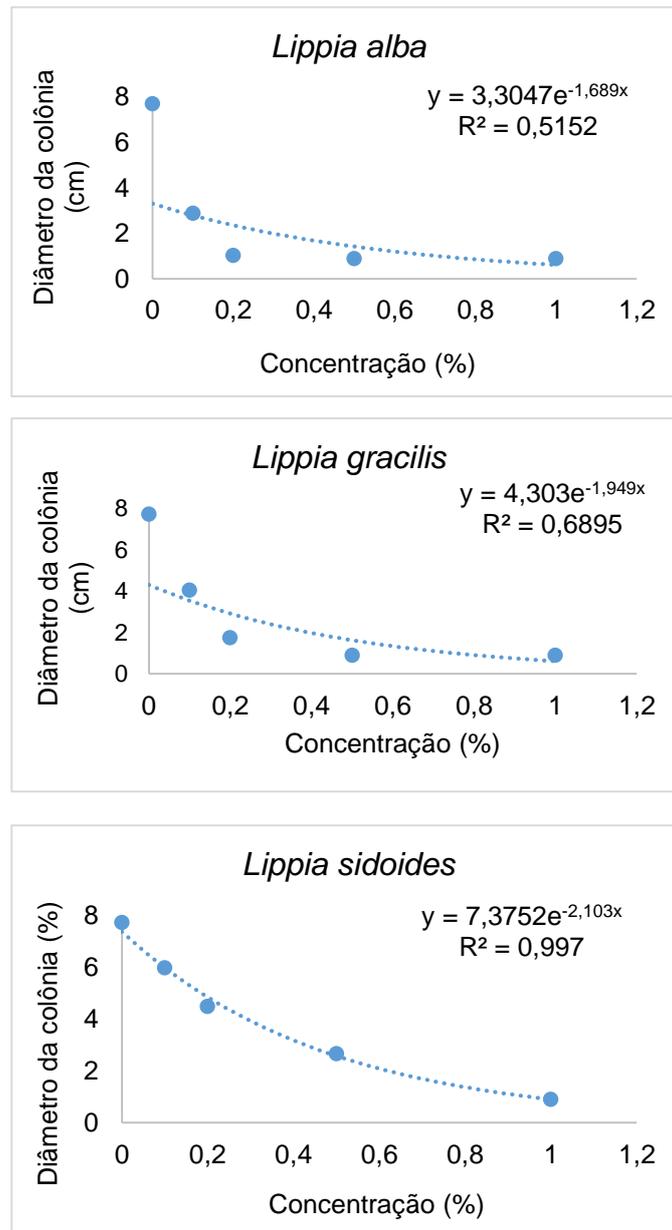


Figura 13. Análise de regressão da Inibição do crescimento micelial de *Colletotricum theobromicola* submetido a diferentes concentrações (0, 0,1; 0,2; 0,5; e 1%) dos óleos essenciais de *Lippia* spp.

O efeito fungicida/ou fungistático dos óleos essenciais está ligado a composição química e as concentrações utilizada em casa estudo. A maior atividade antifúngica do óleo essencial pode ser atribuída a alguns componentes menores resultantes de um efeito sinérgico (Adegoke *et al.* 2000) ou daquele componente que está presente em maior quantidade. No manejo alternativo de *C. musae*, agente causador da antracnose em banana, Oliveira *et al.* (2016), constataram que o óleo essencial de *Lippia sidoides*, *Caryophyllus aromaticus* L. e *Eucalyptus citriodora* Hook em todas as concentrações testadas foram efetivas em inibir o crescimento do patógeno em 100 %.

Os óleos essenciais de quatro quimiotipos de *Lippia alba* caracterizados por seus compostos majoritários, cânfora, linalol e cânfora/1,8 cineol, nas concentrações 0,1; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 $\mu\text{L mL}^{-1}$ foram avaliados sobre *Alternaria solani* Sorauer, patógeno que causa a queima em tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). O óleo que apresentou o citral como componente majoritário teve maior ação sobre o fitopatogeno a partir da concentração 0,5 $\mu\text{L mL}^{-1}$ (Tomazoni *et al.* 2016).

Em relação ao percentual de inibição do crescimento micelial (PIC) (Gráfico 14), todas as espécies de *Lippia* spp., a partir da concentração 0,2 % apresentam PIC acima de 50% de inibição. *Lippia alba* foi a espécie que mais se destacou, com valores de inibição 80,15; 88,33; 88,33% nas concentrações (0,2; 0,5 e 1%), já Souza Junior *et al.* (2009) usando o óleo essencial de *L. sidoides* no controle do *C. gloeosporioides* em maracujazeiro, obtiveram 100% de inibição do crescimento micelial e Fernandes *et al.* (2015) com o óleo essencial de *L. gracilis* sobre *Monosporascus cannonballus* Pollack & Uecker nas três concentrações testadas (255, 340 e 425 ppm) foi eficientes em inibir totalmente o fungo.

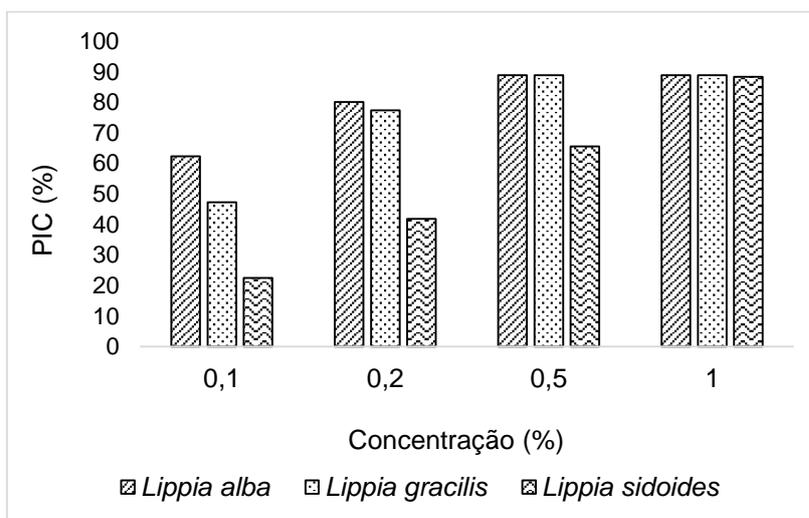


Figura 14. Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) do crescimento micelial de *Colletotrichum theobromicola* submetido a diferentes concentrações (0, 0,1; 0,2; 0,5; e 1%) dos óleos essenciais de *Lippia* spp.

De acordo com Silva *et al.* (2003), a atividade dos óleos essenciais sobre fitopatógenos tem relação com sua propriedade hidrofóbica, uma vez que em contato com os organismos patogênicos causa distúrbios fisiológicos a nível celular, alterando a permeabilidade das membranas celulares e expondo suas organelas às intempéries do meio. Logo os óleos essenciais podem ser explorados como tratamento para o manejo de doenças de planta, pois contribui na eliminação da disseminação de fungos, na supressão do crescimento micelial, esporos, germinação e alongamento do tubo germinativo, contribuindo para limitar a propagação do patógeno no ambiente Soylu *et al.* (2010).

5.5. Efeito dos óleos essenciais na germinação de conídios de *Colletotrichum theobromicola*

Em relação ao percentual de inibição da germinação de conídios para as espécies *Piper* ssp. *P. callosum* demonstrou melhores resultados, pois a partir da menor concentração (0,1%) houve 100% de inibição da germinação de conídios. Em seguida destaca-se *P. hispidum* com inibição de 95,5; 95,7 e 100%, nas concentrações 0,1; 0,2; 0,5%. Dentre as espécies a que apresentou menor poder de inibição da germinação de conídios foi *P. hispidinervum*, com percentuais correspondentes a 34,8 (0,1%) e 52,2 (0,2%).

Tabela 4. Porcentagem de inibição da germinação de conídios de *Colletotrichum theobromicola* submetido as diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Piper* spp.

Porcentagem de inibição da germinação de conídios (%)					
Concentrações (%)	<i>Piper aduncum</i>	<i>Piper callosum</i>	<i>Piper hispidinervum</i>	<i>Piper hispidum</i>	<i>Piper marginatum</i>
0	***	***	***	***	***
0,1	60,01aA	100bA	34,86cA	92,58bA	88,78bA
0,2	86,16aB	100bA	52,26cB	95,70aA	100bB
0,5	93,61aC	100aA	65,11bC	100aA	100aB
1,0	100aC	100aA	80,95bD	100aA	100aB
CV %	7,45				

a, b – Para cada espécie, médias das concentrações seguidas da mesma letra minúscula não difere significativamente entre si; A, B – Para cada concentração, médias das espécies seguidas de mesma letra maiúscula não difere significativamente entre si; segundo o teste de tukey a 5% de significância.

Pesquisas desenvolvidas por Andrade e Vieira (2016), na qual avaliou o efeito fungistático dos óleos essenciais de alecrim, menta, capim-limão, anis, árvore-chá e canela sobre o fungo *C. gloeosporioides*, causador da antracnose do mamoeiro, foi constatado que a taxa de germinação dos conídios decresceu com o aumento das concentrações testadas. Os óleos essenciais (10µL) de capim-limão e anis apresentaram os maiores efeitos negativos sobre a germinação do respectivo fungo com inibição de 38,6% e 39,4%.

Nascimento *et al.* (2019), avaliaram a ação do óleo das sementes de *Carapa guianensis* Aublet e *C. vasquezii* Kenfack no crescimento micelial e germinação de conídios de *A.flavus*, *A. niger* van Tiegh e *Fusarium oxysporum* Schlectendal Emend. Snyder & Hansen e constataram efeitos inibitórios na germinação de conídios usando a concentração 125 µL.mL⁻¹ dos óleos. Os autores observaram ainda mudanças estruturais na agregação e encurtamento dos tubos germinativos dos fungos após o tratamento com os óleos.

Para as espécies *Lippia* spp., a espécie que apresentaram melhores percentuais de inibição da germinação foi *L. alba*, levando total inibição da germinação de conídios a partir da concentração 0,1%. Em seguida, destaca-se *L. gracilis* com inibição de 100% da germinação nas concentrações (0,2; 0,5 1%). É importante ressaltar que todas as espécies de *Lippia* spp., nas respectivas concentrações em estudos revelaram potencial de inibição de esporos acima de 85%.

Tabela 4. 1 Porcentagem de inibição da germinação de conídios de *Colletotrichum theobromicola* submetido as diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Lippia* spp.

Concentrações (%)	<i>Lippia alba</i>	<i>Lippia gracillis</i>	<i>Lippia sidoides</i>
0	***	***	***
0,1	100aA	88,36bA	85,48bA
0,2	100aA	100aB	85,76bA
0,5	100aA	100aB	100aB
1,0	100aA	100aB	100aB
CV %	3,05		

a, b – Para cada espécie, médias das concentrações seguidas da mesma letra minúscula não difere significativamente entre si.
A, B – Para cada concentração, médias das espécies seguidas de mesma letra maiúscula não difere significativamente entre si; segundo o teste de tukey a 5% de significância.

Souza Júnior *et al.* (2009) constataram que os óleos essenciais de *L. sidoides*, *Ocimum gratissimum* L., *L. citriodora* Kunth, *C. citratus* e *Psidium guayava* var. *pomifera* L.) em todas as concentrações testadas ($1\mu\text{L mL}^{-1}$, $3\mu\text{L mL}^{-1}$, $5\mu\text{L mL}^{-1}$ e $10\mu\text{L mL}^{-1}$) inibiram em 100% a germinação dos esporos de *C. gloeosporioides*. O mesmo efeito fungitóxico ocorreu com *C. musae*, onde o óleo essencial de *P. aduncum* (100 e $150\ \mu\text{g mL}^{-1}$) levou a total inibição da germinação de conídios (Bastos e Albuquerque 2004).

Através de pesquisas *in vitro* onde demonstram a redução significativa do crescimento micelial e inibição da produção de esporos pode-se identificar o potencial dos óleos no controle de fungos fitopatogênicos e assim inferir a redução da fonte de inoculo do patógeno em campo e consequentemente reduzir ou controlar o desenvolvimento da doença nas plantas (Soylu *et al.* 2007).

5.6. Avaliação do efeito dos óleos essenciais na morfologia de hifas de *Colletotrichum theobromicola* SEM

Observações de microscopia eletrônica de varredura de hifas de *C. theobromicola* expostas à concentração mais efetiva dos óleos (1%) mostraram alterações na morfologia das hifas em comparação com hifas que não foram submetidas aos óleos essenciais (Figura 3). No controle as hifas apresentaram estruturais normais, com superfícies lisas e alongadas. Já aquelas hifas que receberam os tratamentos com óleos essenciais as hifas demonstraram morfologia degradadas, enrugadas e células murchas, com pouco crescimento do patógeno e ausência de conídios.

Li *et al.* (2017) observaram efeito semelhante ao encontrado neste estudo, onde avaliaram o efeito do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel sobre micélios de *Botrytis cinerea* (De Bary) Whetzel e *Penicillium expansum* Link, os autores constataram que as amostras controle exibiram morfologia normal e uniformes das hifas, enquanto que as hifas expostas a óleo essencial *M. alternifolia* exibiram uma perda de linearidade, parecendo encolhidas e distorcidas, e tinham superfícies verrugas ou enrugadas.

Embora muitos estudos relataram que os óleos essenciais podem agir de maneira diferente dependendo do patógeno, poucos se concentraram nos mecanismos subjacentes a esses efeitos (Li *et al.* 2016). As observações feitas com microscopia de luz e eletrônica estão de acordo com estudos anteriores em que óleos essenciais causaram alterações morfológicas nas hifas fúngicas (Romagnoli *et al.* 2005; Soyly *et al.* 2006; Rasooli *et al.* 2006; Shao *et al.* 2013; Tao *et al.* 2014).

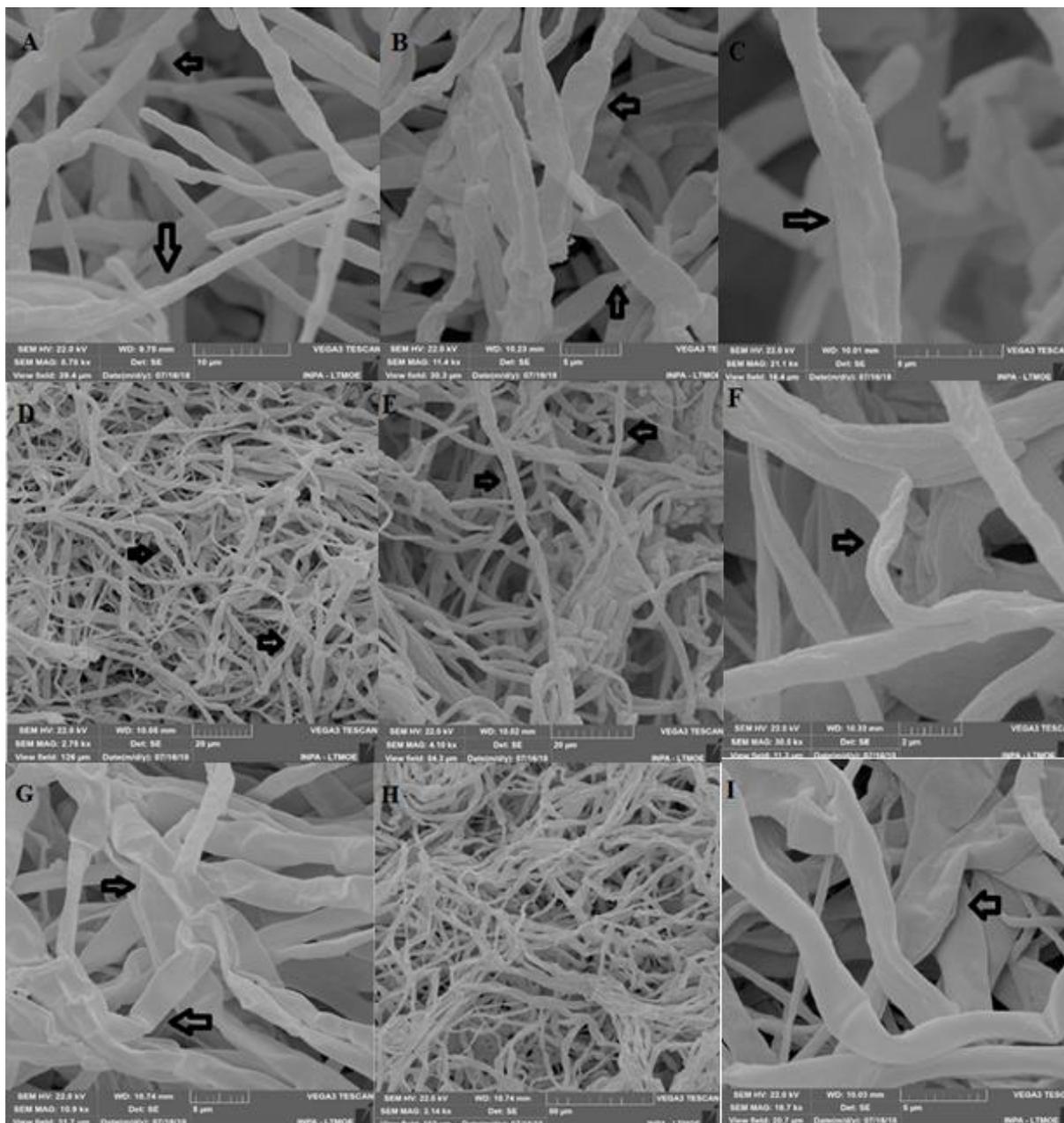


Figura 15. Imagens de microscopia eletrônica de varredura de morfologia de hifas *Colletotrichum theobromicola*. **A** - controle - hifas normais. **B** - hifas expostas ao óleo essencial de *Lippia alba*. **C** - hifas expostas ao óleo essencial de *Lippia alba* (2). **D** - hifas expostas ao óleo essencial de *Lippia gracilis*. **E** - hifas expostas ao óleo essencial de *Lippia sidoides*. **F** - hifas expostas ao óleo essencial de *Piper aduncum*. **G** - hifas expostas ao óleo essencial de *Piper marginatum*. **H** - hifas expostas ao óleo essencial de *Piper callosum*. **I** - hifas expostas ao óleo essencial de *Piper hispidum*.

Trabalhos de Soyly *et al.* (2010) observaram que hifas de *B. cinerea* expostas aos óleos essenciais de orégano (*Origanum syriacum* L. var. *Bevanii*), lavanda (*Lavandula stoechas* L. var. *Stoechas*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) levam a degenerações morfológicas das hifas fúngicas, coagulação citoplasmática, vazamento do protoplasma e perda de conidiação. Efeitos semelhantes em hifas de *S. sclerotiorum* (Lib.) De Bary., expostos às concentrações de óleos de orégano e erva-doce (*Foeniculum vulgare* Mill) mostraram alterações degenerativas da hifa, células murcharam, ausência de citoplasma, padrão incomum de crescimento de hifas, bem como alterações na forma da célula e no tamanho (Soyly *et al.* 2007).

5.7.Efeito dos óleos essenciais na incidência e na severidade da doença

De acordo com os resultados referentes ao efeito dos óleos essenciais na incidência da antracnose na cebolinha, constatou-se que os tratamentos utilizando óleos essenciais reduziu a incidência da doença em campo. Observa-se no gráfico 15 que os óleos essenciais de *P. aduncum*, seguida por *P. marginatum* e *L. alba* (1%) constatou apenas 10, 30 e 45% de incidência em campo. Na pesquisa *in vitro* é importante salientar que todos os óleos essenciais em estudo apresentaram algum efeito limitante ao desenvolvimento do patógeno.

No experimento *in vivo* observa-se que óleos essenciais de *L. sidoides*, *L. gracillis* e *P. hispidinervum* não apresentaram resultados satisfatório na redução da incidência da antracnose, pois a doença atingiu níveis percentuais 75; 60 e 80% de incidência. Estes resultados foram contrários aos avaliados em *in vitro*, pois o óleo essencial destas espécies demonstraram alta eficácia na inibição do crescimento micelial e na inibição da germinação de conídios do fungo.

Bastos e Albuquerque (2004) constataram que o óleo essencial de *P. aduncum* L., no manejo da antracnose da banana foi tão eficiente quanto o tratamento com fungicida benomil. Os autores constataram que o melhor desempenho para o controle da doença foi obtido com o óleo a 1,0%. Estes resultados colaboram com este estudo na qual o óleo essencial de *P. aduncum* reduziu a incidência da doença a 30%.

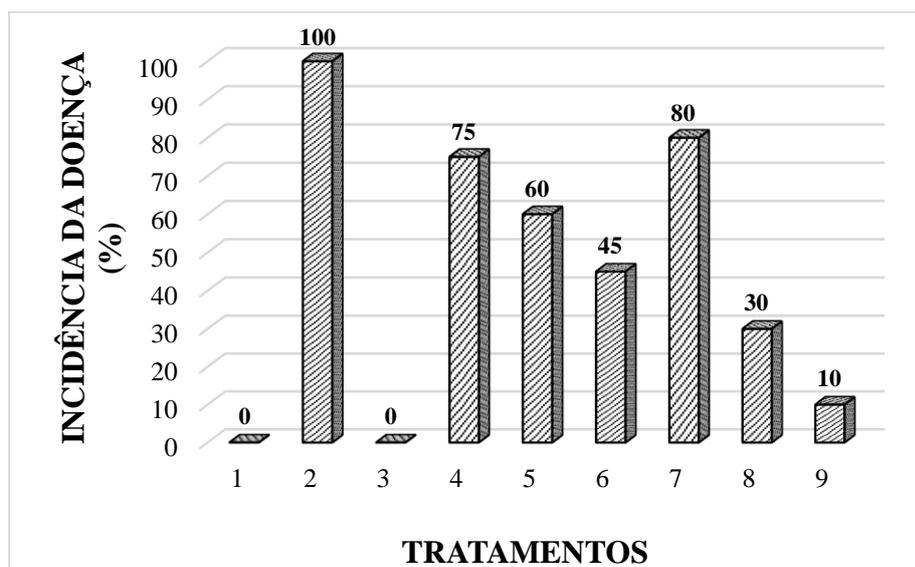


Figura 16. Incidência da antracnose em plantas de cebolinha (*Allium fistulosum* L.). 1 –água; 2 – aplicação somente com a suspensão de esporos; 3 – fungicida; 4 – aplicação do óleo essencial de *Lippia sidoides*; 5 – aplicação com óleo essencial de *L. gracilis*; 6 - aplicação com óleo essencial de *L. alba* ; 7 – aplicação com óleo essencial *Piper hispidinervum*; 8 – aplicação do óleo essencial *P. marginatum*; 9 – aplicação com óleo essencial de *P. aducum*.

Quanto a severidade da doença, plantas tratadas com os óleos essenciais de *P. aducum*, *P. marginatum* e *L. alba* mostraram redução da lesão causada por *C. theobromicola* com nota 1 e 2 na escala, ou seja, os tratamentos proporcionaram folhas limpas, com alguns pontos cloróticos ou pequenas lesões cloróticas-necróticas nas pontas das folhas não interferindo o desenvolvimento da planta. Em comparação com o controle (T2) e com a aplicação com óleo de *P. hispidinervum* observaram-se folhas com lesões necróticas em 70% da áreas foliar e com bastante acérvulos nas folhas o que afetou drasticamente o crescimento da planta, reduzindo a massa fresca e o comprimento das cebolinhas.

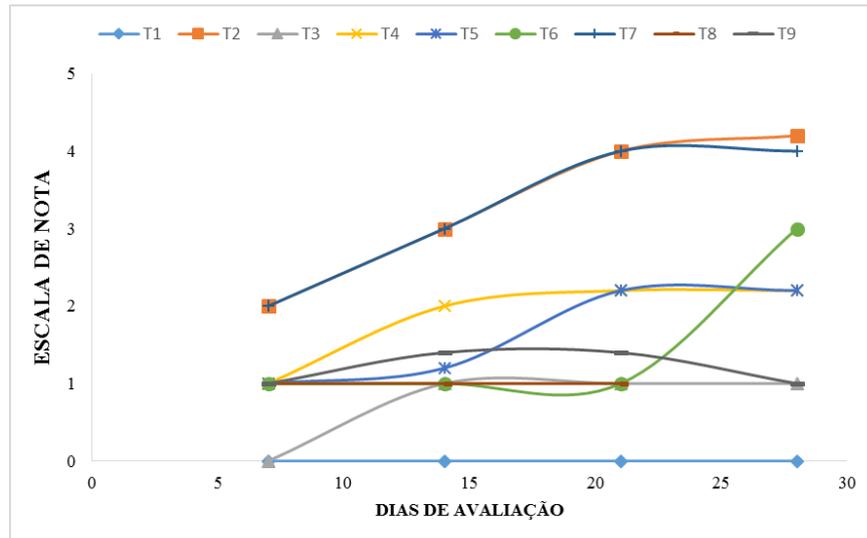


Gráfico 1. Severidade da antracnose em plantas de cebolinha (*Allium fistulosum* L.). 1 – água; 2 – aplicação somente com a suspensão de esporos; 3 – fungicida; 4 – aplicação do óleo essencial de *Lippia sidoides*; 5 – aplicação com óleo essencial de *L. gracilis*; 6 - aplicação com óleo essencial de *L. alba*; 7 – aplicação com óleo essencial *Piper hispidinervum*; 8 – aplicação do óleo essencial *P. marginatum*; 9 – aplicação com óleo essencial de *P. aduncum*.

5.8. Análise biométrica e da biomassa da cebolinha

As cebolinhas tratadas com óleos essenciais de *P. aduncum*, *P. marginatum*, *L. alba* e com o fungicida tiveram incrementos na massa fresca e apresentaram maior comprimento da planta (33,8; 33,0; 36,1 e 40 cm). A aplicação preventiva com estes tratamentos protegeram as plantas da ação danosa do patógeno *C.theobromicola*, proporcionando desenvolvimento normal à planta e consequentemente obtendo plantas saudáveis e viçosas.

Em relação ao tratamento controle as plantas apresentam enrolamento, curvatura e amarelamento das folhas sintoma característico da antracnose, exibiram, ao longo dos dias, manchas deprimidas e com a presença de acérvulos. Santana (2015), corroboram com estes resultados, pois constatou que hidrolados de pimenta-longa e macaporanga proporcionaram bom desenvolvimento em cebolinha. Mas, o tratamento controle apresentou redução da parte aérea, redução da emissão de novas raízes e presença de manchas foliares deprimidas.

Tabela 4. 2. Análise da matéria fresca, matéria seca e comprimento das plantas após a colheita. 1 –água; 2 – aplicação somente com a suspensão de esporos; 3 – fungicida; 4 – aplicação do óleo essencial de *L. sidoides*; 5 – aplicação com óleo essencial de *L. gracilis*; 6 - aplicação com óleo essencial de *L. alba*; 7 – aplicação com óleo essencial *P.hispidinervum*; 8 – aplicação do óleo essencial *P. marginatum*; 9 – aplicação com óleo essencial de *P. aducum*.

Tratamentos	Materia fresca (g)	Materia seca (g)	Comprimento da planta (cm)
1	11,04ab	3,29a	39,20a
2	5,91c	1,86b	17,14c
3	10,86ab	3,24a	39,46a
4	10,25b	3,26a	31,21b
5	6,55c	3,57a	33,82ab
6	10,98ab	3,76a	33,08ab
7	6,40c	2,45b	16,60c
8	11,86ab	3,29a	36,14ab
9	12,60a	3,52a	40,08a
CV(%)	9,66	11,1	11,33

a, b – Para cada tratamento, médias das concentrações seguidas da mesma letra minúscula não difere significativamente entre si, segundo o Teste de Tukey a 5% de significância.

6. CONCLUSÃO

- ✓ A maior atividade in vitro contra *C. theobromicola* foi demonstrada pelos óleos de *P. callosum*, *Piper marginatum* e *Piper hispidinervum*, *Lippia alba* e *L. gracilis* em concentrações de 0,2% a 1%.
- ✓ Os óleos essenciais de *Piper callosum* e *Lippia alba* em todas as concentrações testadas inibiram completamente a germinação de conídios de *C. theobromicola*.
- ✓ A suscetibilidade de *C. theobromicola* foi diferenciada e dependeu do tipo do óleo essencial em estudo e da concentração testada.
- ✓ Os óleos de *P. aduncum*, *P. callosum* e *L. alba* reduziu a incidência e a severidade da antracnose, proporcionando plantas mais viçosas e saudáveis.
- ✓ Concluímos que estes produtos podem ser usados como produtos alternativos aos fungicidas sintéticos contra o fungo *C. theobromicola*, abrindo perspectiva para aplicação destes resultados na agricultura.

7. REFERÊNCIAS

- Adaskaveg, J. E., Hartin, R. J. 1997. Characterization of *Colletotrichum acutatum* isolates causing anthracnose of almond and peach in California. *Phytopathology*, 87(9), 979–987. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1997.87.9.979>.
- Adegoke, G.O.; Iwahashi, Y.; Komatsu, H.; Obuchi, K.; Iwahashi, Y. 2000. Inhibition of food spoilage yeasts and aflatoxigenic moulds by monoterpenes of the spice *Aframomum daniellii*. *Flavour and Fragrance Journal*, (15): 147–150.
- Aerts, R. J.; Snoeijer, W.; Meijden, V.D.; E., Verpoorte, R. 1991. Allelopathic inhibition of seed germination by Cinchona alkaloids? *Phytochemistry*, 30(9): 2947–2951. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)98229-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)98229-3)
- AGROFIT. 2019. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso: 24/02/19.
- Alfenas, A.C.; Mafia, R.G. 2016. *Métodos em Fitopatologia*. 2ed. Viçosa.
- Alipour, Z.; Taheri, P.; Samadi, N. 2014. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils from flower, leaf and stem of *Ferula cupularis* growing wild in Iran. *Pharmaceutical Biology*, 53(4): 483–487. doi:10.3109/13880209.2014.924149.
- Almeida, D. 2006. *Manual de culturas hortícolas*. Lisboa, 343pp.
- Andrade, H.E.A.; Guimarães, E.F.; Maia, J.G.S. 2009. Variabilidade química em óleos essenciais de espécies de *Piper* da Amazônia, 448pp.
- Andrade, W.P.; Vieira, G.H.C. 2016. Efeito dos óleos essenciais sobre a antracnose *in vitro* e em frutos de mamoeiro. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 18(1): 367–372. https://doi.org/10.1590/1983-084X/15_089.
- Antunes, M. D. C.; Cavaco, A. M. 2010. The use of essential oils for postharvest decay control. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, 25(5): 351–366.
- Aquino, S.F. 2011. *Ação de óleos essenciais sobre Colletotrichum gloeosporioides (Penz) do maracujazeiro-amarelo*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, Minas Gerais 81pp.
- Araújo, I.B.; Peruch, L. A.M.; Stadnik, M.J. 2012. Efeito do extrato de alga e da argila silicatada na severidade da alternariose e na produtividade da cebolinha comum (*Allium fistulosum* L.). *Tropical Plant Pathology*, 37(5): 363–367. <https://doi.org/10.1080/00268976.2018.1433882>.
- Araujo, M.S.; Miguel, J.R.; Jascone, C.E. 2012. O Gênero *Piper* L. (Piperaceae) no parque natural municipal da Taquara, Duque de Caxias. II Simpósio de Pesquisa em Mata Atlântica.

- Bailey, J.A.; Jeger, M.J. 1992. *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. Wallingford: Commonwealth Mycological Institute; 388pp.
- Bakkali, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D.; Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>.
- Banani, H.; Olivieri, L.; Santoro, K.; Garibaldi, A.; Gullino, M.; Spadaro, D. 2018. Thyme and savory essential oil efficacy and induction of resistance Against *Botrytis cinerea* through priming of defense responses in apple. *Foods*, 7(2): 2-8. doi:10.3390/foods7020011.
- Bastos, C. N.; Albuquerque, P. S. B. 2004. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotricum musae* em banana. *Fitopatologia Brasileira*, 29(5): 555–557. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582004000500016>.
- Bastos, C.N. 1997. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipelis* e outros fungos fitopatogênicos. *Fitopatologia Brasileira*, 22(3): 441.
- Bay-Hurtado, F.; Lima, R. A., Teixeira, L. F., Carmo, I., Silva, F.; Bay, S.; Azevedo, M.S.; Facundo, V. A. 2016. Atividade Antioxidante e caracterização do óleo essencial das raízes de *Piper marginatum* Jacq. *Ciência e Natureza*, 38(3): 1504-1511.
- Bertini, L.M.; Pereira, A.F.; Oliveira, C.L.L.; Menezes, E.A.; Moras, S.M.; Cunha, F.A.; Cavalcanti, E.S.B. 2005. Óleos essenciais de algumas plantas do nordeste do Brasil. *Infarma*, 17(3–4): 80–83.
- Bitu, V.; Botelho, M.A.; Costa, J.G.M.; Rodrigues, F.F.G.; Veras, H.N.H.; Martins, K.T.; Lyra, T.; Coluchi, G.G.; Ruela, R.S.; Queiroz, D.B.; Siqueira, J.S.; Quintans-Junior, L.J. 2012. Phytochemical screening and antimicrobial activity phytochemical of essential oil from *Lippia gracillis*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22(1), 69–75. doi:10.1590/s0102-695x2011005000173.
- Bizzo H.R.; Lopes, D.; Abdala, R.V.; Pimentel, F.A.; Souza, J.A.; Pereira, M.V.G.; Bergter, L.; Guimarães, E.F. 2001. Sarisan from leaves of *Piper hispidinervum* C. DC (long peper). *Flavour and Fragrance Journal*, 16(2): 113-115.
- Bosquez-Molina E.; Jesus E. R.; Bautista-Banos S.; Verde-Calvo J. R.; Morales-Lopez, J. 2010. Inhibitory effect of essential oils against *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* in stored papaya fruits and their possible application in coatings. *Postharvest Biology and Technology*, (57): 132–137. Doi: 10.1016/j.postharvbio.2010.03.008.
- Botelho, M. A.; Martins, J. G.; Ruela, R. S.; I. R.; Santos, J.A.; Soares, J. B.; França, M. C.; Montenegro, D.; Ruela, W. S.; Barros, L. P.; Queiroz, D. B.; Araujo, R. S.; Sampio, F. C. 2007. Protective effect of locally applied carvacrol gel on ligature-induced periodontitis in rats: a tapping mode AFM study. *Phytotherapy Research*, (23): 1439-1348.
- Boukaew, S.; Prasertsan, P.; Sattayasamitsathit, S. 2017. Evaluation of antifungal activity of essential oils against aflatoxigenic *Aspergillus flavus* and their allelopathic activity from fumigation to protect maize seeds during storage. *Industrial Crops and Products*, 97: 558–566. doi:10.1016/j.indcrop.2017.01.005.

- Božik, M.; Císarová, M.; Tančinová, D.; Kouřimská, L.; Hleba, L.; Klouček, P. 2017. Selected essential oil vapours inhibit growth of *Aspergillus* spp. in oats with improved consumer acceptability. *Industrial Crops and Products*, 98: 146–152. doi:10.1016/j.indcrop.2016.11.044.
- Brazão, M. A. B; Brazão, F. V.; Maia, J.G.S.; Monteiro, M.C. 2014. Antibacterial activity of the *Piper aduncum* oil and dillapiole, its main constituent, against multidrug-resistant strains. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 13(6): 517–526.
- Brito, N.M.; Nascimento, L.C. 2015. Potencial fungitóxico de extratos vegetais sobre *Curvularia eragrostidis* (P. Henn.) Meyer *in vitro*. *Revista Brasileira de plantas medicinais*, 17 (2): 230-238. doi: http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/10_057
- Brum, R.B.C.S. 2012. *Efeito de óleos essenciais no controle de fungos fitopatogênicos*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, Tocantins. 135pp.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food Microbiology* 94 (2): 223–253.
- Carson, C. F.; Hammer, K. A.; Riley, T. V. 2006. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a Review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(1): 50–62. doi:10.1128/cmr.19.1.50-62.2006.
- Carvalho, A. F.; Melo, V. M.; Craveiro, A. A.; Machado, M. I.; Bantim, M.B.; Rabelo, E. F. 2003. Larvicidal activity of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. against *Aedes aegypti* Linn. *Memória do Instituto Oswaldo Cruz*, 98(4):569-571.
- Carvalho, R.R.C.; Laranjeira, D.; Carvalho Filho, L.S. 2013. In vitro activity of essential oils of *Lippia sidoides* and *Lippia gracilis* and their major chemical components against *Thielaviopsis paradoxa*, causal agent of stem bleeding in coconut palms. *Química Nova*, 36(2): 241-244.
- Celoto, M.I.B.; Papa, M.F.S.; Sacramento, L.V.S.; Celoto, F.J. 2008. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. *Acta Scientiarum Agronomy*, 30(1): 1-5. Doi: <http://dx.doi.org/10.4025/actasciagron.v30i1.1104>.
- Chaves, F.C.; Cunha, A.L.B.; Batista, A.C.; Bizzo, H.R.; Gama, P.E. 2013. Teor e composição química do óleo essencial de *Piper hispidum* nas condições de Manaus-AM. VII Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais.
- Chiejina, N.V.; Ukeh, J.A. 2012. Antimicrobial properties and phytochemical analysis of methanolic extracts of *Aframomum melegueta* and *Zingiber officinale* on fungal diseases of tomato fruit. *Journal of Natural Sciences Research*, 2 (6): 10-15.
- Costa, S. M.; Lemos, T.L.; Pessoa, O.D.; Pessoa, C.; Montenegro, R. C.; Braz-Filho, R. 2001. Chemical constituents from *Lippia sidoides* and cytotoxic activity. *Journal of Natural Products*, (64):792-795.

- Couto, E.F.; Menezes, M. 2004. Caracterização fisiomorfológica de isolados de *Colletotrichum musae*. *Fitopatologia Brasileira*, (29): 406-412.
- Cox, S. D.; Mann, C. M.; Markham, J. L.; Bell, H. C.; Gustafson, J. E.; Warmington, J. R.; Wyllie, S. G. 2001. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, 88(1): 170–175. doi:10.1046/j.1365-2672.2000.00943.x.
- Dambolena, J. S.; López, A. G.; Cánepa, M. C.; Theumer, M. G.; Zygadlo, J. A.; Rubinstein, H. R. 2008. Inhibitory effect of cyclic terpenes (limonene, menthol, menthone and thymol) on *Fusarium verticillioides* MRC 826 growth and fumonisin B1 biosynthesis. *Toxicon*, 51(1): doi: 37–44. doi:10.1016/j.toxicon.2007.07.005.
- Dambolena, J. S.; Zunino, M. P.; López, A. G.; Rubinstein, H. R.; Zygadlo, J. A.; Mwangi, J. W.; Thoithi, G.N.; Kibwage, I.O.; Mwalukumbi, J.A.; Kariuki, S.T. 2010. Essential oils composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. from Kenya and their inhibitory effects on growth and fumonisin production by *Fusarium verticillioides*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(2):410–414. doi:10.1016/j.ifset.2009.08.005.
- Diniz, S. P. S. S.; Coelho, J. S.; Rosa, G. S.; Specian, V.; Oliveira, R. C.; Oliveira, R. R. 2008. Bioatividade do óleo essencial de *Mentha arvensis* L. no controle de fungos fitopatogênicos. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 10(4), 9–11.
- Dorman, H. J. D.; Deans, S. G. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2): 308–316. doi:10.1046/j.1365-2672.2000.00969.x.
- Espitia, P. J. P.; Soares, N. F. F.; Botti, L. C. M.; Melo, N. R. Pereira, O. L.; Silva, W. A. da. 2012. Assessment of the efficiency of essential oils in the preservation of postharvest papaya in an antimicrobial packaging system. *Brazilian Journal of Food Technology*, 15(4), 333–342. doi:10.1590/s1981-67232012005000027
- Facundo, V. A.; Polli, A. R.; Rodrigues, R. V.; Militão, J. S. L. T.; Stabelli, R. G.; Cardoso, C. T. 2008. Constituintes químicos fixos e voláteis dos talos e frutos de *Piper tuberculatum* Jacq., e das raízes de *P. hispidum* H. B. K. *Acta Amazonica*, 38(4), 743–748. doi:10.1590/s0044-59672008000400018.
- Fazolin, M.; Estrela, J. L.V.; Catani, V.; Alécio, M. R.; Lima, M.S. 2007. Insecticidal properties of essential oils of *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. and *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum against *Tenebrio molitor* L., 1758. *Ciência e Agrotecnologia*, 31(1): 113-120 <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542007000100017>.
- Fernandes, L. C. B.; Albuquerque, C. C.; Sales Júnior, R.; Oliveira, F. F. M., Gurgel, E. P., Mesquita, M. V.; Silva, M. D. S. 2015. Fungitoxicidade dos extratos vegetais e do óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer sobre o fungo *Monosporascus cannonballus* Pollack e Uecker. *Summa Phytopathologica*, 41(2): 153–155. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/1978>

- Ferreira, D. F. 2008. Sisvar - sistema de análise de variância para dados balanceados. Lavras:
- Ferreira, F. D.; Kimmelmeier, C.; Arrotéia, C. C.; Costa, C. L.; Mallmann, C. A.; Janeiro, V.; Ferreira, F. M. F.; Mossini, S.A.G.; Silva, E.; Machinski Jr, M. 2013. Inhibitory effect of the essential oil of *Curcuma longa* L. and curcumin on aflatoxin production by *Aspergillus flavus* Link. *Food Chemistry*, 136(2): 789–793. doi:10.1016/j.foodchem.2012.08.003.
- Ferreira, J. B.; Neves, Y. Y. B.; Nascimento, G. O.; Figueiredo, A. L. V. F.; Venturi, N. N. 2012. Óleos essenciais no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, Agente causal da antracnose em palmáceas. *Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer*, 8(14), 1–10.
- Figueiredo, A.; Barroso, J.; Pedro, L.; Salgueiro, L.; Miguel, M.; Faleiro, M. 2008. Portuguese Thymbra and Thymus Species Volatiles: Chemical Composition and Biological Activities. *Current Pharmaceutical Design*, 14(29):3120–3140. doi:10.2174/138161208786404218.
- Filgueira, F. A. R. 2000. *Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças*. Viçosa, Minas Gerais, 402pp.
- Gaia, J. M. D.; Mota, M. G.C.; Conceição, C. C. C.; Maia, J. G. S. 2010. Spiked pepper: selection of clones toward cropping on the edaphoclimatic conditions from Belém, Brazil. *Horticultura Brasileira*, 28(4): 418–423. doi:10.1590/s0102-05362010000400007.
- Gama, G. O.; Souza, T. C.; Quevedo, L. F. 2016. Avaliação do desenvolvimento de mudas de cebolinha produzidas em três tipos de substratos comerciais na região de Dourados-Ms. *Revista Eletrônica da Faculdade de Ciências Exatas e da Terra*, 8(5), 36–42.
- Girardi, N. S.; Passone, M. A.; García, D.; Nesci, A.; Etcheverry, M. 2018. Microencapsulation of *Peumus boldus* essential oil and its impact on peanut seed quality preservation. *Industrial Crops and Products*, (114): 108–114. doi:10.1016/j.indcrop.2018.01.036
- Glamočlija, J.; Soković, M.; Tešević, V.; Linde, G. A.; Colauto, N. B. 2011. Chemical characterization of *Lippia alba* essential oil: An alternative to control green molds. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42(4): 1537–1546. Doi: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822011000400041>
- Gomes, E. C.; Serra, I. M. R. S. 2013. Eficiência de produtos naturais no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em pimenta na pós-colheita. *Summa Phytopathologica*, 39(4): 290-292.
- Gomes, S. V. F.; Nogueira, P. C. L.; Moraes, V. R. S. 2011. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. *Eletica Química*, 36(1): 64–77. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-46702011000100005>.
- Gonçalves, F. J. T.; Barbosa, F. G.; Lima, J. S.; Coutinho, I. B. L.; Oliveira, F. C., Rocha, R. R.; Andrade Neto, M. 2016. Atividade antagonista do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae) sobre *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 18(1): 149–156. Doi: https://doi.org/10.1590/1983-084X/15_127.

- Grigoletti Júnior, A.; Lau, D. 1999. Crescimento de isolados de *Cylindrocladium spathulatum* da erva-mate de cinco regiões do estado do Paraná. *Boletim de Pesquisa Florestal*, (38): 67-75.
- Guerriero, G.; Berni, R.; Muñoz-Sanchez, J. A.; Apone, F.; Abdel-Salam, E. M.; Qahtan, A. A.; Alatar, A.A.; Cantini, C.; Cai, G.; Hausman F.; Siddiqui, K.S.; Hernández-Sotomayor, S.M.; Faisal, M. 2018. Production of plant secondary metabolites: Examples, tips and suggestions for biotechnologists. *Genes*, 9(6): 309. Doi: <https://doi.org/10.3390/genes9060309>.
- Hanada, E. R.; Gasparotto, L.; Pereira, J. C. 2004. Eficiência de desinfestantes na erradicação de conídios de *Mycosphaerella fijiensis* aderidos à superfície de bananas. *Fitopatologia Brasileira*, 29(1): 94–96.
- Hennebelle, T.; Sahpaz, S.; Joseph, H.; Bailleul, F. 2008. Ethnopharmacology of *Lippia alba*. *Journal of Ethnopharmacology*, 116(2):211-22. doi: 10.1016/j.jep.2007.11.044.
- Hu, Y.; Zhang, J.; Kong, W.; Zhao, G.; Yang, M. 2017. Mechanisms of antifungal and anti-aflatoxic properties of essential oil derived from turmeric (*Curcuma longa* L.) on *Aspergillus flavus*. *Food Chemistry*, (220): 1–8. doi:10.1016/j.foodchem.2016.09.179.
- IDAM, 2014. (www.idam.gov.br). Acesso em: 15/08/2018
- Isman, M. B.; Miresmailli, S.; MacHial, C. 2011. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. *Phytochemistry Reviews*, 10(2): 197–204. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11101-010-9170-4>.
- Isman, M. B.; Wilson, J. A.; Bradbury, R. 2008. Insecticidal activities of commercial rosemary oils (*Rosmarinus officinalis*.) against larvae of *Pseudaletia unipuncta* and *Trichoplusia ni*. in relation to their chemical compositions. *Pharmaceutical Biology*, 46(1-2): 82–87. doi:10.1080/13880200701734661.
- Jagana, A. M. P.; Jagana, D.; Hegde, Y. R.; Lella, R. 2018. Bioefficacy of essential oils and plant oils for the management of banana, 7(04): 2359–2365.
- Julião, L. S.; Tavares, E. S.; Lage, C. L. S.; Leitão, S. G. 2003. Cromatografia em camada fina de extratos de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill) N.E.Br. (erva-cidreira). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, (13): 36–38. doi:10.1590/s0102-695x2003000300014.
- Kohiyama, C. Y.; Yamamoto Ribeiro, M. M.; Mossini, S. A. G.; Bando, E.; Bomfim, N. S.; Nerilo, S.B.; Rocha, G.H.O.; Grespan, R.; Mikcha, J.M.G.; Machinski, M. 2015. Antifungal properties and inhibitory effects upon aflatoxin production of *Thymus vulgaris* L. by *Aspergillus flavus* Link. *Food Chemistry*, (173): 1006–1010. doi:10.1016/j.foodchem.2014.10.135
- Kumar A.; Shukla R.; Singh P.; Singh A. K.; Dubey N. K. 2009. Use of essential oil from *Mentha arvensis* L. to control storage moulds and insects in stored chickpea. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(15): 2643–2649. Doi 10.1002/jsfa.3768.

- La Torre, A.; Mandalà, C.; Pezza, L.; Caradonia, F.; Battaglia, V. 2014. Evaluation of essential plant oils for the control of *Plasmopara viticola*. *Journal of Essential Oil Research*, 26(4): 282–291. Doi: <https://doi.org/10.1080/10412905.2014.889049>.
- Leal, L. K. A. M.; Oliveira, V. M.; Araruna, S.M.; Miranda, M.C.C.; Oliveira, F.M.A. 2003. Análise do timol por CLAE na tintura de *Lippia sidoides* Cham. (alecrim-pimenta) produzida em diferentes estágios de desenvolvimento da planta. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 13 (1).
- Li, Y.; Kong, W.; Li, M.; Liu, H.; Zhao, X.; Yang, S.; Yang, M. 2016. *Litsea cubeba* essential oil as the potential natural fumigant: Inhibition of *Aspergillus flavus* and AFB1 production in licorice. *Industrial Crops and Products*, (80):186–193. doi:10.1016/j.indcrop.2015.11.008.
- Li, Y.; Shao, X.; Xu, J.; Wei, Y.; Xu, F.; Wang, H. 2017. Effects and possible mechanism of tea tree oil against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum* in vitro and in vivo test. *Canadian Journal of Microbiology*, 63(3): 219–227. doi:10.1139/cjm-2016-0553
- Liaqat, I.; Riaz, N.; Saleem, Q. U. A.; Tahir, H. M.; Arshad, M.; Arshad, N. 2018. Toxicological Evaluation of essential oils from some plants of Rutaceae family. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-7. <https://doi.org/10.1155/2018/4394687>.
- Lima, R. K.; Cardoso, M. G.; Moraes, J. C.; Melo, B. A.; Rodrigues, V. G.; Guimarães, P. L. 2009. Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Amazonica*, 39(2): 377–382. doi:10.1590/s0044-59672009000200016.
- Lins, S. R. O.; Abreu, M. S.; Alves, E. 2007. Estudos histopatológicos de *Colletotrichum* spp. em plântulas de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 32(6): 488–495.
- Lorini, A.; Bonaldo, S.M.; Mendes, B.L. 2016. Efeito voláteis de óleos essenciais no desenvolvimento de patógenos em amêndoas de castanhas-do-brasil. *Scientia Agraria Paranaensis*, 15:121-126.
- Machado, M. P.; Bergo, C. L.; Deschamps, C.; Bizzo, H. R.; Biasi, L. A. 2013. Efeito da secagem natural e artificial da biomassa foliar de *Piper hispidinervum* na composição química do óleo essencial. *Semina: Ciências Agrárias*, 34(1): 265–270. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n1p265>.
- Machado, T.F.; Pereira, R.C.A.; Batista, V.C.V. 2014. Seasonal variability of the antimicrobial activity of the essential oil of *Lippia alba*. *Revista Ciência Agronômica*, 45(3): 515-519.
- Maia, J. G. S.; Silva, M. L.; Luz, A. I. R.; Zoghbi, M. G. B.; Ramos, L. S. 1987. Espécies de *Piper* da Amazônia ricas em safrol. *Química Nova*, 10 (3): 200-204.
- Maia, J. G. S.; Zoghbi, M. D. G. B.; Andrade, E. H. A.; Santos, A. S.; da Silva, M. H. L.; Luz, A. I. R.; Bastos, C. N. 1998. Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* L. growing wild in the Amazon region. *Flavour and Fragrance Journal*, 13(4): 269–272. doi:10.1002/(sici)1099-1026(1998070)13:4<269::aid-ffj744>3.0.co;2-a.

- Matos, K.S.; Santana, K.F.A.; Catarino, A.M.; Hanada, R.E. 2017. First report of anthracnose on welsh onion (*Allium fistulosum*) in Brazil caused by *Colletotrichum theobromicola* and *C. truncatum*. *Plant disease*, 101: 1055.
- Menendé, P.; Onell, S.; Muller, S.; Dellacassa, B. 1993. Estudio de la actividad antimicrobiana de distintos aceites esenciales. Jornada de pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria, Anais, 124pp.
- Moraes, L. A. S. Óleos essenciais no controle fitossanitário. 2009. In: Bettioli, W.; Morandi, M. A. B. *Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas*. Vol.1. EMBRAPA Meio Ambiente, p. 139-152.
- Morandim, A.D.; Pin, A R.; Pietro, N. A S.; Alecio, A C.; Kato, M. J.; Young, C. M.; Furlan, M. 2010. Composition and screening of antifungal activity against *Cladosporium sphaerospermum* and *Cladosporium cladosporioides* of essential oils of leaves and fruits of Piper species. *African Journal of Biotechnology*, 9(37): 6135–6139. Doi: <https://doi.org/10.5897/AJB09.1956>.
- Moreira, D. L.; Kaplan, M. A. C.; Pereira, N. A.; Cardoso, G. L. 2001. Effect of leaf essential oil from *Piper solmsianum* C. DC. in mice behaviour. *Anais de Academia Brasileira de Ciências*, 73(1). Doi <http://dx.doi.org/10.1590/S0001-37652001000100004>.
- Nakatsu, T.; Lupo, A. T.; Chinn, J. W.; Kang, R. K. L. 2000. Biological activity of essential oils and their constituents. *Studies in Natural Products Chemistry*, 571–631. doi:10.1016/s1572-5995(00)80014-9.
- Nascimento, D.M.; Vieira G.H.C.; Batista, T.B.; Koyanagui, M.T.; Bardivieso, E.M. 2014. Efeito de óleos essenciais sobre o crescimento micelial *in vitro* de *Fusarium solani* f.sp *glycines*. *Enciclopédia biosfera, Centro Científico Conhecer*, 10(19): 874.
- Nascimento, F.R.; Cardoso, M.G.; Souza, P.T.; Lima, R.K.; Salgado, A.P.SP.; Guimarães, L.G.L. 2008. Efeito do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC) e do emulsificante Tween® 80 sobre o crescimento micelial de *Alternaria alternata* (Fungi: Hyphomycetes). *Acta Amazônica*, 38(3): 503 – 508.
- Nascimento, G. O.; Souza, D. P.; Santos, A. S.; Batista, J. F.; Rathinasabapathi, B.; Gagliardi, P. R.; Gonçalves, J. F. C. 2019. Lipidomic profiles from seed oil of *Carapa guianensis* Aubl. and *Carapa vasquezii* Kenfack and implications for the control of phytopathogenic fungi. *Industrial Crops and Products*, (129): 67–73. doi:10.1016/j.indcrop.2018.11.069.
- Nascimento, K.M. 2011. Composição química e atividade antifúngica dos óleos essenciais de espécies de piper frente a cepas de *Candida* spp. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual do Ceará, 83pp.
- Navarrete, A.; Wallraf, S.; Mato, R. B.; Cocero, M. J. 2011. Improvement of essential oil steam distillation by microwave pretreatment. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 50(8): 4667–4671. Doi: <https://doi.org/10.1021/ie102218g>

- Negreiros, J.R.S.; Miqueloni, D.P.; Álvares, V.S. 2017. Comportamento do composto majoritário de óleos essenciais de espécies de Piper da Amazônia sob armazenamento. *Caderno de Ciências Agrárias*, 9(2): 63-68.
- Nelson, D. L.; Cox, M. M. 2011. *Princípios de Bioquímica de Lehninger*. Porto Alegre, 600pp.
- Nerilo, S. B.; Rocha, G. H. O.; Tomoike, C.; Mossini, S. A. G.; Grespan, R.; Mikcha, J. M. G.; Machinski, M. 2015. Antifungal properties and inhibitory effects upon aflatoxin production by *Zingiber officinale* essential oil in *Aspergillus flavus*. *International Journal of Food Science & Technology*, 51(2): 286–292. doi:10.1111/ijfs.12950.
- Nieto, G. 2017. Biological activities of three essential oils of the Lamiaceae Family. *Medicines*, 4(3): 63. Doi: <https://doi.org/10.3390/medicines4030063>.
- Oliveira, E. S.; Viana, F. M. P.; Martins, M. V. V. 2016. Alternativas a fungicidas sintéticos no controle da antracnose da banana. *Summa Phytopathologica*, 42(4), 340–350. doi:10.1590/0100-5405/2000
- Oliveira, G.L.; Cardoso, S.K.; Júnior, C.R.L.; Vieira, T.M.; Guimarães, E.F.; Figueiredo, L.S.; Martins, E.R.; Moreira, D.L.; Kaplan, M.A.C. 2013. Chemical study and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oil of *Piper aduncum* L. (Piperaceae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 85(4): 1227-1234. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201391011>
- Oliveira, M. M.; Brugnera, D.; Cardoso, M.; Guimarães, L. G.; Piccoli, R. 2011. Rendimento, composição química e atividade antilisterial de óleos essenciais de espécies de *Cymbopogon*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 13(1): 8–16. doi:10.1590/s1516-05722011000100002.
- Oliveira, O.R.; Terao, D.; Carvalho, A.C.P.P.; Innecco, R.; Albuquerque, C.C. 2008. Efeito de óleos essenciais de plantas do gênero *Lippia* sobre fungos contaminantes encontrados na micropropagação de plantas. *Revista Ciência agrônômica* 39(1): 94-100.
- Pandey, A. K.; Kumar, P.; Singh, P.; Tripathi, N. N.; Bajpai, V. K. 2017. Essential oils: sources of antimicrobials and food preservatives. *Frontiers in Microbiology*, (7): 1-14. doi:10.3389/fmicb.2016.02161.
- Pandey, A. K.; Sonker, N.; Singh, P. 2016. Efficacy of some essential oils against *Aspergillus flavus* with special reference to *Lippia alba* oil an inhibitor of fungal proliferation and aflatoxin B1 Production in Green Gram Seeds during Storage. *Journal of Food Science*, 81(4): 928-934. Doi: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13254>.
- Passone, M. A.; Girardi, N. S.; Ferrand, C. A.; Etcheverry, M. 2012. In vitro evaluation of five essential oils as botanical fungitoxicants for the protection of stored peanuts from *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* contamination. *International Biodeterioration & Biodegradation*, (70) 82–88. doi:10.1016/j.ibiod.2011.11.017.
- Pereira, R. B.; Oliveira, V. R.; Plantas, D.; Pinheiro, J. B. 2014. Diagnose e manejo de doenças fúngicas na cultura da cebola. *Circular técnico*, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

- Pessoa, W. R. L. S.; Oliveira, S. M. A.; Dantas, S. A. F.; Tavares, S. C. C. H.; Santos, A. M. G. 2007. Efeito da temperatura e período de molhamento sobre o desenvolvimento de lesões de *Colletotrichum musae* em banana. *Summa Phytopathologica*, 33(2): 147-151. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-54052007000200008>.
- Piccinin, E.; Pascholati, S. F.; Di Pierro, R. M. 2005. Doenças da goiabeira. In: Kimati, H.; Amorim, L.; Resende, J. A.; Bergamim Filho, A. Camargo, L. E. *Manual de fitopatologia*. Vol. 2. Doenças das plantas cultivadas. 4ed. São Paulo, pp.401-405.
- Pio-Ribeiro, G.; Mariano, R. L. R. 1997. Doenças do maracujazeiro. In: Kimati, H.; Amorim, L. Bergamin Filho, A.; Camargo, L. E. A.; Rezende, J. A. M. *Manual de fitopatologia*. 3. ed. São Paulo, pp.525-534.
- Ramos, K. L.; Andreani Junior, R. I.; Kozusny- Andreani, D.I. 2016. Óleos essenciais e vegetais no controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. 18(2), 605-612.
- Rasooli, I.; Rezaei, M. B.; Allameh, A. 2006. Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus x-porlock*. *Food Control*, 17(5): 359–364. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.12.002>.
- Raut, J. S.; Karuppayil, S. M. 2014. A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*, (62) 250–264. doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.055>.
- Raven, P.H.; Evert, R.F.; Eichhorn, S.E. 2007. *Biologia Vegetal*, 7^a. ed., Rio de Janeiro, 295pp.
- Regente, M.C., Oliva, C.R., Ffeldman, M.L., Castagnaro, A.P.; Canal, L., 1997. A sunflower leaf antifungal peptide active against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Physiologia Plantarum*, v.100, p.178-182.
- Romagnoli, C.; Bruni, R.; Andreotti, E.; Rai, M.; Vicentini, C.; Mares, D. 2005. Chemical characterization and antifungal activity of essential oil of capitula from wild Indian *Tagetes patula* L. *Protoplasma*, 225(1-2): 57-65. doi: 10.1007/s00709-005-0084-8.
- Russo, A.; Formisano, C.; Rigano, D.; Senatore, F.; Delfine, S.; Cardile, V.; Bruno, M. 2013. Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grown in different environmental conditions. *Food and Chemical Toxicology*, (55): 42–47. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.12.036>.
- Saad, N. Y.; Muller, C. D.; Lobstein, A. 2013. Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. *Flavour and Fragrance Journal*, 28(5): 269–279. doi:10.1002/ffj.3165.
- Santamarina, M.; Ibáñez, M.; Marqués, M.; Roselló, J.; Giménez, S.; Blázquez, M. 2017. Bioactivity of essential oils in phytopathogenic and post-harvest fungi control. *Natural Product Research*, 31(22): 2675–2679. doi:10.1080/14786419.2017.1286479

- Santana, K.F.A. 2015. Controle alternativo da antracnose em cebolinha (*Allium fistulosum* L.) utilizando produtos derivados de vegetais. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas, 83pp.
- Santana, K.F.A.; Coelho Netto, R.A.; Assis, L.A.G.; Hanada, R.E. 2018. Controle alternativo da antracnose em cebolinha (*Allium fistulosum* L.) utilizando produtos derivados de vegetais. In: *Ciência e Tecnologia Aplicada aos Agroecossistemas da Amazônia Central*. 1º ed. Manaus, 403pp.
- Santana, K.F.A.; Garcia, C.B.; Matos, K.S.; Hanada, R.E. 2016. First report of antracnose caused by *Colletotrichum spaethianum* on *Allium fistulosum* in Brasil. *Plant Disease*, 100:6.
- Santos, H.R.; Marino, R.H.; Blank, A.F.; Gomes, L.A.A.; Cruz, E.M.O.; Meneses, T.N.; Viana, M.D. 2012. Atividade nematicida do óleo de *Lippia gracilis* Schauer. *Horticultura Brasileira* 30(2): 136-142.
- Santos, M. R. A.; Silva, A. G.; Lima, R. A.; Lima, D. K. S.; Sallet, L. A. P.; Teixeira, C. A.D.; Polli, A.B.; Facundo, V. A. 2010. Atividade inseticida do extrato das folhas de *Piper hispidum* (Piperaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*). *Revista Brasileira de Botânica*, 33(2): 319–324. doi:10.1590/s0100-84042010000200012
- Sarkhosh, A.; Schaffer, B.; Vargas, A. I.; Palmateer, A. J.; Lopez, P.; Soleymani, A. 2018. In vitro evaluation of eight plant essential oils for controlling *Colletotrichum*, *Botryosphaeria*, *Fusarium* and *Phytophthora* fruit rots of avocado, mango and papaya. *Plant Protection Science*, 54(3): 153–162. doi: <https://doi.org/10.17221/49/2017-PPS>.
- Sarmiento-Brum, R. B. C.; Castro, H. G. ; Silva, M. L.; Sarmiento, R. A.; Nascimento, I. R. do Santos, G. R. dos. 2014. Effect of plant oils in inhibiting the mycelial growth of pathogenic fungi. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, (5):63-70.
- Sartorelli, P.; Marquiereito, A.D.; Amaral-Baroli, A.; Lima, M.E.L.; Moreno, P.R.H. 2006. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from two species of *Eucalyptus*. *Phytotherapy Research*, 21(3):231–233.
- Sauter, I. P.; Rossa, G.V.; Lucas, A.M.; Cibulski, S.P.; Roehe, P.M.; Silva, L.A.A.; Rott, M.B.; Vargas, R.M.F.; Cassel, E.; Poser, G.L. 2012. Chemical composition and amoebicidal activity of *Piper hispidinervum* (Piperaceae) essential oil. *Industrial Crops and Products*, 40(1), 292–295. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.03.025>
- Schwan-Estrada, K.R.F.; Stangarlin, J.R. Silva Cruz, M.E. 2003. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. *Floresta*, (30): 129-137.
- Shao, X.; Cheng, S.; Wang, H.; Yu, D.; Mungai, C. 2013. The possible mechanism of antifungal action of tea tree oil on *Botrytis cinerea*. *Journal of Applied Microbiology*, 114(6): 1642–1649. doi:10.1111/jam.12193.
- Shukla, R.; Kumar, A.; Singh, P.; Dubey, N. K. 2009. Efficacy of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown essential oil and its monoterpene aldehyde constituents against fungi isolated from

- some edible legume seeds and aflatoxin B1 production. *International Journal of Food Microbiology*, 135(2): 165–170. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2009.08.002.
- Silva, A. C.; Sales, N. P.; Araújo, A.V.; Caldeira, C. F. 2009. Efeito in vitro de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Isolado do maracujazeiro. *Ciência e Agrotecnologia*, (33):853-860.
- Silva, A. L.; Chaves, F. C. M.; Lameira, R. C.; Bizzo, H. R. 2013. Rendimento e composição do óleo essencial de *Piper aduncum* L. cultivado em Manaus, AM, em função da densidade de plantas e épocas de corte. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, (15): 670–674. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000500007>.
- Silva, D. F.; Araújo Neto, S. E.; Ferreira, R. L. F.; Ribeiro, S. A. L. R.; Silva, R. S.; Silva, N. M. 2017. Controle alternativo da antracnose em cebolinha orgânica cultivada em ambiente protegido e campo. *Agropecuária Científica no Semiárido*, 13(3): 223-228.
- Silva, D. M. M. H., Bastos, C. N. 2007. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de Piper sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. *Fitopatologia Brasileira*, 32(2): 143–145. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-41582007000200008>.
- Silva, J. L.; Souza, P. E.; Monteiro, F. P.; Freitas, M. L. O.; Silva Júnior, M. B.; Belan, L. L. 2014. Antifungal activity using medicinal plant extracts against pathogens of coffee tree. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 16(3): 539–544. doi:10.1590/1983-084x/12_155.
- Silva, S. R. S.; Demuner, A. J.; Barbosa, L. C. A.; Andrade, N. J.; Nascimento, E. A.; Pinheiro, A. L. 2003. Análise dos constituintes químicos e da atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, (6) 63-70.
- Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P.R. 2010. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, Porto Alegre, pp.468-469.
- Simões, C. M.; Shenkel, E.P.; Gosman, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R. 2004. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre, pp1102.
- Soares, B.V.; Tavares-Dias, M. 2013. Espécies de *Lippia* (Verbenaceae), seu potencial bioativo e importância na medicina veterinária e aquicultura. *Biota Amazônica*, 3 (1): 109-123.
- Sonker, N.; Pandey, A . K.; Singh, P. 2014. Efficiency of *Artemisia nilagirica*(Clarke) Pamp. essential oil as a mycotoxinant against postharvest mycobiota of table grapes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(9): 1932–1939. doi:10.1002/jsfa.6901
- Sousa, P. J. C.; Barros, C. A. L.; Rocha, J. C. S.; Lira, D. S.; Monteiro, G. M.; Maia, J. G. S. 2009. Avaliação toxicológica do óleo essencial de *Piper aduncum* L. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 18(2): 217–221. doi: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000200013>.

- Souza Júnior, T. S.; Sales, N. L. P.; Martins, E. R. 2009. Efeito fungitóxico de óleo essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. *Revista Biotemas*, 22(3), 77–83.
- Souza, B. C.M.; Castro, S.P.; Lourido, K.A.; Chiara, D.; Castro, K.C.F.; Lustosa, D. C. 2018. Óleo essencial de erva-cidreira sobre fitopatógenos de espécies florestais e agrícolas. *Agroecossistemas*, 10 (1): 206 – 215.
- Souza, R. M. S.; Serra, I. M. R. S.; Melo, T. A. 2012. Efeito de óleos essenciais como alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, em pimenta. *Summa phytopathol.* 38(1).
- Soylu, E. M.; Kurt, Ş.; Soyly, S. 2010. 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*, 143(3): 183-189. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.08.015..
- Soylu, E. M.; Soyly, S.; Kurt, S. 2006. Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. *Mycopathologia*, 161(2): 119-128. doi: 10.1007/s11046-005-0206-z.
- Soylu, S.; Yigitbas, H.; Soyly, E. M.; Kurt, Ş. 2007. Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Applied Microbiology*, 103(4), 1021–1030. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03310.x>
- Stangarlin, J. R.; Schwan-Estrada, K. R. F.; Cruz, M. E. S.; Nozaki, M. H. 1999. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. *Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento*, Brasília, 11(2), 16-21.
- Stangarlin, J. R.; Schwan-Estrada, K. R. F.; Cruz, M. E. S.; Nozaki, M. H. 1999. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. *Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento*, 11(2), 16-21.
- Taiz, L.; Zeiger, E. 2006. *Fisiologia vegetal*. 1ed. 630pp.
- Tao, N.; Jia, L.; Zhou, H. 2014. Anti-fungal activity of Citrus reticulata blanco essential oil against *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum*. *Food. Chemistry*, (153): 265-271. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.12.070.
- Tavares, E.S.; Julião, L.S.; Lopes, D.; Bizzo, H.R.; Lage, C.L.S.; Leitão, S.G. 2005. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, (15):1-5.
- Töfoli, R.J.; Domingues, J.T. 2015. Ferrari. Antracnose em solanáceas: etiologia, características e controle biológico, São Paulo, 77: 73-79.
- Tomazoni, E. Z.; Pansera, M. R.; Pauletti, G. F.; Moura, S.; Ribeiro, R. T. S.; Schwambach, J. 2016. In vitro antifungal activity of four chemotypes of *Lippia alba* (Verbenaceae) essential oils against *Alternaria solani* (Pleosporaceae) isolates. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 88(2): 999–1010. doi: <https://doi.org/10.1590/0001-3765201620150019>.

- Valadares, A. C. F.; Alves, C. C. F.; Alves, J. M.; de Deus, I. P. B., de Oliveira Filho, J. G., dos Santos, T. C. L.; Miranda, M. L. D. 2018. Essential oils from *Piper aduncum* inflorescences and leaves: chemical composition and antifungal activity against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 90(3): 2691–2699. doi:10.1590/0001-3765201820180033
- Venturoso, L. R.; Bacchi, L. M. A.; Gavassoni, W. L.; Pontim, B. C. A.; Conus, L. A. 2010. Influência de diferentes metodologias de esterilização sobre a atividade antifúngica de extratos aquosos de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 12(4), 499–505. doi:10.1590/s1516-05722010000400014.
- Viana, F. M. P.; Freire, F. das C. O.; Cardoso, J. E.; Vidal, J. C. 2003. Principais doenças do maracujazeiro na região nordeste e seu controle. *Comunicado Técnico*, (86):1–11.
- Wink, M. 1988. Plant breeding: importance of plant secondary metabolites for protection against pathogens and herbivores. *Theoretical and Applied Genetics*, 75(2): 225–233. doi: <https://doi.org/10.1007/BF00303957>
- Wink, M. 2003. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*, 64(1): 3–19. doi: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00300-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00300-5).
- Yamamoto-Ribeiro, M. M. G.; Grespan, R.; Kohiyama, C. Y.; Ferreira, F. D.; Mossini, S. A. G., Silva, E. L.; Machinski Junior, M. 2013. Effect of *Zingiber officinale* essential oil on *Fusarium verticillioides* and fumonisin production. *Food Chemistry*, 141(3): 3147–3152. doi:10.1016/j.foodchem.2013.05.144
- Yuncker, T.G. 1972. The Piperaceae of Brazil. Hoehnea .366pp.
- Zacaroni, L. M.; Cardoso, M. G.; Souza, P. E.; Pimentel, F. A.; Guimarães, L. G. D. L.; Salgado, A. P. S. P. 2009. Potencial fungitóxico do óleo essencial de *Piper hispidinervum* (pimenta longa) sobre os fungos fitopatogênicos *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gloeosporioides*. *Acta Amazonica*, 39(1), 193–197. doi: <https://doi.org/10.1590/S0044-59672009000100020>.
- Zárate, A. N. H.; Vieira, M. do C.; Bratti, R. 2003. Efeitos da cama-de-frango e da época de colheita sobre a produção e a renda bruta de cebolinha “Todo Ano”. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 33(2): 73–78.
- Zárate, N. A. H.; Vieira, M. C. 2004. Produção e renda bruta da cebolinha solteira e consorciada com espinafre. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 22, n. 4, p. 811-814, 2004.
- Zétola M, Lima Tcm, Sonaglio D, Gonzáles-Ortega G, Limberger RP, Petrovick PR and Bassani VL. 2002. CNS activities of liquid and spray-dried extracts from *Lippia alba* - Verbenaceae (Brazilian false melissa). *J Ethnopharmacol* 82: 207-215.