

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
COORDENAÇÃO DE AGRONOMIA  
CÂMPUS DOIS VIZINHOS

THYARA HILMANN

**EFEITO VOLÁTIL DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO TRATAMENTO DE SEMENTES  
DE TOMATE E NO CONTROLE *IN VITRO* DE *Fusarium oxysporum***

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOIS VIZINHOS

2015

**THYARA HILMANN**

**EFEITO VOLÁTIL DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO TRATAMENTO DE SEMENTES  
DE TOMATE E NO CONTROLE *IN VITRO* DE *Fusarium oxysporum***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior de Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira Agrônoma.

Orientador: Prof. Dr. Sergio Miguel Mazaro.

**DOIS VIZINHOS**

**2015**



## TERMO DE APROVAÇÃO

### EFEITO VOLÁTIL DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE TOMATE E NO CONTROLE *IN VITRO* DE *Fusarium oxysporum*

por

THYARA HILMANN

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 24 de novembro de 2015 como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheira Agrônoma. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

---

Prof. Dr. Sergio Miguel Mazaro  
Prof. Orientador

---

Prof. Dra. Dalva Paulus  
Membro titular

---

Prof. Dr. Álvaro Rodrigo Freddo  
Membro titular

---

Prof. Dra. Angélica Signor Mendes  
Responsável pelos Trabalhos  
de Conclusão de Curso

---

Prof. Dr. Laércio Ricardo Sartor  
Coordenador do Curso  
UTFPR – Dois Vizinhos

“O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do Curso”

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus... Pela dádiva da vida e pela força e fortaleza nos momentos de dificuldades...

Ao meu orientador Sérgio Miguel Mazaro, obrigada pela amizade, orientação, ensinamentos e confiança em mim depositada...

Em especial aos meus pais que são meu alicerce, minha fonte de energia, conselheiros, meu exemplo de vida, de caráter e de amor...

Ao meu amor Edirlei Tomaz por todo amor, carinho, paciência e companheirismo, que sempre esteve ao meu lado ajudando e apoiando nos momentos em que mais precisei...

Ao meu irmão Luiz Felipe... Por me ser esta parceria que és...

A minha avó Alvina por ser um exemplo de fé, garra e humildade...

Aos meus “paidrinhos” Inês Hilmann e Valdemir Carara por todo carinho e incentivo...

Ao Sr. Ancelmo e Sra.Jandira que foram meus segundos pais fora de casa, ficarão para sempre em meu coração...

A minha grande amiga Alini... Com quem tiver a oportunidade de compartilhar grandes momentos, és um verdadeiro presente de Deus...

Aos meus vizinhos Andressa e Emerson... Muito obrigada pela amizade e acolhimento...

Aos meus amigos de sala de aula e de república que alegraram meus dias ao longo desses anos...

Aos meus colegas de laboratório que me auxiliaram na condução deste trabalho...

Ao MEC pela concessão da bolsa PET...

Ao Grupo PET Agricultura Familiar – Saberes e Fazeres da Vida no Campo por todo o crescimento pessoal e profissional...

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná, por tudo o que me proporcionou nesta caminhada...

E a todos que, de uma forma contribuíram para a concretização desta etapa importante da minha vida... MUITO OBRIGADA!

## RESUMO

HILMANN, Thyara Hilmann. **Efeito volátil de óleos essenciais no tratamento de sementes de tomate e no controle *in vitro* de *Fusarium oxysporum*.** 2015. 50f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2015.

A utilização de compostos químicos no controle de fitopatógenos tem causado sérios problemas ao meio ambiente, assim surge a necessidade de testar produtos naturais como controle alternativo de fitopatógenos. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de óleos essenciais no tratamento de sementes de tomate e no controle *in vitro* de *Fusarium oxysporum*. Foram realizados dois experimentos no laboratório de fitopatologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR durante o ano de 2015. As sementes de tomate foram inoculadas com o fungo *Fusarium oxysporum* por um período de 48 horas. Em seguida foram tratadas por volatilização pelos óleos essenciais dos 16 tratamentos, sendo que para isso as mesmas foram dispostas em lotes de 20 sementes e 4 repetições, acondicionadas em embalagens de inox tipo cadinho, o óleo essencial aplicado em papel filtro. Após a exposição das sementes aos voláteis, efetuou-se teste de germinação, considerando percentual de plântulas germinadas normais, anormais mais não germinadas e tamanho de plântulas. O material vegetal foi coletado para análises bioquímicas de proteínas totais, atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase, quitinases e  $\beta$ -1-3 glucanases. O segundo experimento foi *in vitro*, aplicando os óleos essenciais em papel filtro, dispondo um disco de *F.oxysporum* no centro da placa contendo meio BDA. Avaliou-se o crescimento ou supressão da colônia em função dos tratamentos. Para os dois experimentos o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 4 repetições, os dados foram tabulados e submetidos aos testes de análise de variância, por Scott-Knott ( $p=0,05$ ). No experimento onde realizou-se o tratamento de sementes, os óleos de Tomilho, Laranja Pêra, Artemisia, Pimenta Rosa, Cravo, Capim-limão, Malaleuca, Gengibre e Eucalipto demonstraram ação na melhoria dos parâmetros relacionado germinação. Os demais óleos, com exceção do de canela que causou dano nas plântulas, não apresentaram interferência. Todos os óleos essenciais demonstraram potencial de indução de resistência, ativando a rota dos fenilpropanóides, através da ação da enzima FAL, Um segundo mecanismo de indução de resistência comprovado neste trabalho foi ativação das enzimas hidrolíticas quitinases e  $\beta$ -1-3 glucanases. No experimento *in vitro*, os óleos de Tomilho, Limão-taiti, Louro, Artemisia, Pimenta Rosa, Cravo, Canela, Melaleuca, Gengibre e Eucalipto apresentaram efeito fungicida, não ocorrendo desenvolvimento do micélio de *F. oxisporium* no meio. Já os óleos essenciais de Pitanga, Laranja Pêra, Guaçatonga e Capim-limão apresentaram potencial fungistático. Os óleos essenciais de Priprioca e Goiaba não apresentaram ação sobre o patógeno.

**Palavras-chave:** Avaliação de germinação, Controle alternativo. Indução de resistência. Patógeno.

## ABSTRACT

HILMANN, Thyara Hilmann. **Effect of volatile essential oils in the treatment of tomato seeds and *in vitro* control of *Fusarium oxysporum***. 2015. 50f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) Federal Technology University - Paraná. Dois Vizinhos, 2015.

The use of chemicals to control plant pathogens has caused serious problems to the environment, thus arises the need to test natural products as an alternative control of plant pathogens. The objective was to evaluate the effect of essential oils in the treatment of tomato seeds and *in vitro* control of *Fusarium oxysporum*. Two experiments were conducted in the laboratory of plant pathology at the Federal Technological University of Paraná - UTFPR during 2015. The tomato seeds were inoculated with the fungus *Fusarium oxysporum* for a period of 48 hours. Then they were treated by evaporation by essential oils to 16 treatments, and for that they have been arranged in lots of 20 seeds and 4 repetitions, packed in stainless crucible type packaging, the essential oil applied on filter paper. After exposure to volatile seeds, made up germination test, considering the percentage of normal, abnormal seedlings germinated more non-germinated and seedling size. The plant material was collected for biochemical analysis of total protein, the enzymes phenylalanine ammonia lyase, chitinase and  $\beta$ -1-3 glucanases. The second experiment was *in vitro* by applying essential oils on filter paper, laying out a *F.oxysporum* disc in the center of the plate containing PDA medium. We evaluated the growth or suppression of colony on the treatments. For both experiments the experimental design was completely randomized with four repetitions, the data were tabulated and submitted to the test ANOVA, Scott-Knott ( $p = 0.05$ ). In the experiment which was held the treatment of seeds, thyme oils, Orange Pear, Artemisia, Pink Pepper, Clove, Lemongrass, Malaleuca, Ginger and Eucalyptus demonstrated action on improving germination related parameters. Other oils, with the exception of cinnamon that caused damage to seedlings, showed no interference. All essential oils have shown resistance induction potential, activating the route of the phenylpropanoids, through the action of FAL enzyme, a second resistance induction mechanism proven in this work was activation of enzymes hidriliticas chitinase and  $\beta$ -1-3 glucanases. In the *in vitro* experiment, thyme oils, lemon-Tahiti, Blonde, Artemisia, Pink Pepper, Clove, Cinnamon, Melaleuca, Ginger and Eucalyptus showed fungicidal effect, not occurring *F. oxisporium* development of mycelium in the middle. Since the essential oils of Pitanga, Orange Pear, Guacatonga and Lemongrass showed fungistatic potential. The essential oils of Priprioca and guava showed no action on the pathogen.

**Keywords:** Germination of evaluation. Alternative control. Induced resistance. Pathogen.

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 01.** Tamanho de plântulas, plântulas germinadas normais e plântulas não germinadas e anormais, submetidas ao tratamento de sementes pelo processo de volatilização. UTFPR - Dois Vizinhos, PR, 2015.....34
- Tabela 02.** Atividade enzimática das proteínas quitinase e glucanase de plântulas de tomateiro. UTFPR - Dois Vizinhos, PR, 2015 .....37
- Tabela 03.** Crescimento micelial do fungo *Fusarium oxysporum* submetido aos tratamentos com óleos essenciais por volatilização. UTFPR - Dois Vizinhos, PR, 2015.....40

## SUMÁRIO

<b>1- INTRODUÇÃO</b> .....	<b>10</b>
<b>2- OBJETIVOS</b> .....	<b>12</b>
2.1- Objetivo Geral.....	12
2.2- Objetivos Específicos .....	12
<b>3- REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>13</b>
3.1- A Cultura do Tomate ( <i>Lycopersicon Esculentum</i> Mill.) .....	13
3.2- Tratamento Alternativo de Sementes Com Uso de Óleo Essencial.....	14
3.3- Indução de Resistência.....	16
3.4- Descrição das Espécies dos Óleos Essenciais.....	18
3.4.1- Tomilho ( <i>Thymus vulgaris</i> L).....	18
3.4.2- Pitanga ( <i>Eugenia uniflora</i> L.).....	18
3.4.3-Limão-Taiti ( <i>Citrus aurantifolia</i> ) .....	19
3.4.4- Laranja Pêra ( <i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck).....	20
3.4.5- Guaçatonga ( <i>Casearia sylvestris</i> Sw.) .....	20
3.4.6-Louro ( <i>Laurus nobilis</i> ) .....	21
3.4.7- Artemisia ( <i>Artemisia vulgaris</i> L.) .....	21
3.4.8- Goiaba ( <i>Psidium guajava</i> L.).....	22
3.4.9- Pimenta Rosa ( <i>Schinus terebinthifolius</i> ).....	22
3.4.10- Cravo ( <i>Syzygium aromaticum</i> ).....	23
3.4.11-Capim Limão ( <i>Cymbopogon citratus</i> ).....	23
3.4.12- Priprioca ( <i>Cyperus articulatus</i> L) .....	24
3.4.13- Canela ( <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ) .....	24
3.4.14- Melaleuca ( <i>Melaleuca alternifolia</i> ).....	25
3.4.15 - Gengibre ( <i>Zingiber officinale</i> ).....	25
3.4.16- Eucalipto ( <i>Eucalyptus spp</i> ).....	26
<b>4- METODOLOGIA</b> .....	<b>27</b>
4.1- Obtenção do <i>Fusarium oxysporum</i> e Inoculação .....	27
4.2 - Volatilização do Óleo Essencial .....	27
4.3- Germinação das Sementes Inoculadas com <i>Fusarium oxysporum</i> .....	28
4.4- Metodologias das Análises Bioquímicas .....	28
4.5 - Experimento <i>in vitro</i> .....	30
4.6- Análises dos Dados .....	31
<b>5- RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>32</b>



<b>6 - CONCLUSÃO .....</b>	<b>40</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>41</b>

## 1 - INTRODUÇÃO

A utilização de produtos químicos vem acarretando sérios problemas para os sistemas de produção, causando ineficiência de controle, sejam por desenvolvimento de resistência por parte dos fitopatógenos, perda de eficiência dos fungicidas ou até mesmo gerando contaminação ambiental. Deste modo surge a necessidade da busca de métodos alternativos de controle de doenças, por parte de pesquisadores e produtores para as mais variadas culturas (VENZON, 2006, p. 206).

A cultura do tomate apresenta alta suscetibilidade a diversas doenças durante seu cultivo, entre estas, o tombamento de plântulas. O tombamento também é chamado de *damping-off*, afeta tecidos vegetais jovens, causando lesões deprimidas que provocam o fendilhamento ou constrição do caule, levando ao tombamento da muda (MAZARO, 2009, p.1424).

O tombamento de plântulas é causado principalmente por fungos do gênero *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Colletotrichum* spp., *Phoma* spp., *Fusarium* spp., *Helminthosporium* spp., *Cercospora* spp. e *Botrytis* spp. e bactérias dos gêneros: *Xanthomonas* spp. e *Pseudomonas* spp. (BEDENDO, 1995, p. 820-828).

O fungo *Fusarium* é um importante gênero de fitopatógenos causadores de podridões radiculares, murchas vasculares, podridões de sementes, produção de micotoxinas (MASSOLA JÚNIOR e KRUGNER, 2011, p. 367-388) e o tombamento de plântulas (BEDENDO, 2011, p. 367-388).

O *Fusarium oxysporum* Schlecht. Emend. Snyd. & Hans é um dos fungos habitantes do solo que causam diversos problemas em hortaliças (REIS; LOPES, 2007, p.189-224). Esta espécie pertence ao filo Ascomycota, classe Ascomycetes e ordem Hypocreales (SOUZA, 2009, p. 13).

De uma forma geral o controle de doenças de plantas, incluindo os problemas por *damping off*, tem sido controlados na maioria das situações pela utilização de agroquímicos, protegendo as sementes e contribuindo após a sua emergência. Desta forma, com o aumento da preocupação com a qualidade ambiental e os métodos de produção agrícola empregadas, buscam-se produtos

mais saudáveis, além da adoção de práticas de produção favoráveis à conservação e qualidade do meio ambiente (CAMPANHOLA & BETTIOL, 2003, p. 13-51).

Assim, métodos alternativos para produção agrícola vêm sendo desenvolvidos para suprir esta demanda da sociedade, Morais (2009, p.139-152) relata que as plantas medicinais podem ser utilizadas como defensivos naturais na agricultura, especialmente pelo uso de seus óleos essenciais, estas por sua vez, apresentam-se como uma alternativa promissora, devido ao fato que as plantas são uma fonte inesgotável de moléculas, a maioria delas com propriedades ainda desconhecidas, que podem servir de modelo para síntese química, de forma ambientalmente segura, com baixo custo e eficazes no controle de fitopatógenos.

Em trabalhos desenvolvidos com a utilização de extratos brutos ou óleos essenciais de plantas, têm-se observado a potencialidade no controle de fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta (inibindo o crescimento micelial e germinação de esporos), quanto pela indução de componentes de defesa vegetal, para formação de compostos fenólicos, como as fitoalexinas, evidenciando seu caráter muitas vezes elicitador (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000, p.132; MAZARO et al. 2008, p. 1.825).

Ainda os óleos podem ativar enzimas relacionadas à patogenicidade, com as quitinases e  $\beta$ -1,3 glucanases, enzimas essas que atuam na resistência de plantas contra microrganismos patogênicos (STANGARLIN et al., 2011, p.28).

Por mais que se conheçam o potencial dos óleos essenciais, não foram encontrados trabalhos que envolvam o efeito volátil dos mesmos no tratamento de sementes de tomateiro e sobre o *Fusarium oxysporum* em condições *in vitro*.

## 2 - OBJETIVOS

### 2.1- Objetivo Geral

- ✓ Avaliar o efeito volátil de óleos essenciais no tratamento de sementes de tomateiro e no controle de *Fusarium oxysporum in vitro*.

### 2.2- Objetivos Específicos

- ✓ Determinar a potencialidade de dezesseis óleos essenciais no tratamento de sementes de tomateiro inoculadas o fungo *Fusarium oxysporum*.
- ✓ Analisar o potencial dos óleos essenciais sobre as características fisiológicas de plântulas de tomateiro, bem como analisar bioquimicamente os materiais vegetais, na busca da identificação de rotas metabólicas de defesa vegetal, ativadas pelo uso dos óleos essenciais.
- ✓ Avaliar a potencialidade do uso de óleos essenciais no controle *in vitro* de *Fusarium oxysporum*.

### 3- REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1- A Cultura do Tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.)

O tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.) é uma das hortaliças mais cultivadas e de maior valor econômico no mundo, sendo a segunda mais cultivada em área no país, superada somente pela batata-inglesa (*Solanum tuberosum*) (GRAÇA, 2013, p. 1-2).

O tomateiro tem como centro de origem a região andina, desde o Equador, passando pela Colômbia, Peru, Bolívia, até o norte do Chile. A primeira descrição botânica do tomate foi feita por Píer Andréa Mattioli, do jardim botânico de Pádua, Itália, onde publicou em seu herbário em 1554. O tomate (*Solanum lycopersicum*, L.) é uma planta dicotiledônea pertencente à família das solanáceas. A taxonomia geralmente aceita é: Classe: Dicotyledoneae, Ordem: Solanales (Personatae), Família: Solanaceae, Subfamília: Solanoideae, Gênero: *Lycopersicon*, Espécie: *esculentum* (CANTU, 2007, p. 6).

A cultura do tomate é uma das hortaliças de maior consumo no Brasil, porém apresenta um grande número de pragas e doenças durante todas as fases do ciclo de produção, esta suscetibilidade ocorre desde o período de produção de mudas até a comercialização (ROLIM, 2006, p. 1).

O meio de controle fitossanitário da cultura do tomateiro se dá basicamente por produtos químicos, o que vem ocasionando um desequilíbrio biológico, ressurgimento de pragas e doenças e resistência a determinados produtos (HAJI, 1992, p. 71-80).

Diante do fato do produtor estar cada vez mais atento aos sistemas de produção, não buscando apenas qualidade, mas também, preocupado em adquirir produtos mais naturais, ou com o uso de agroquímicos o mais equilibrado possível, vem se buscando meios de viabilizar a produção, não incluindo somente o retorno econômico, mas medida de prevenção dos danos, que as práticas de cultivo podem causar ao meio ambiente e a saúde humana (BRITO, 2012, p. 1).

A cultura do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) é infectada por diversas doenças que trazem grandes perdas econômica, destacando-se a murcha de fusário causada por *Fusarium oxysporum* Schlecht f.sp. *lycopersici* Snyder & Hansen, sendo uma das medidas para evitar a introdução desta doença na lavoura o uso cultivares resistentes (Kurozawa & Pavan, 1997, p. 690-717). Porém, existe poucas cultivares resistentes e, muitas destas cultivares que tem a suscetibilidade a doença, são as mais produtivas, o que demanda utilizar métodos de controle alternativos para o controle deste patógeno (GURGEL et. al., 2005, p. 655).

### **3.2- Tratamento Alternativo de Sementes Com Uso de Óleo Essencial**

Uma dos principais meios de disseminação de doenças em uma cultura é através de sementes infectadas, estas ocasionam a redução na germinação e no vigor das plântulas (MACHADO et al., 2001, p. 95).

Diante do grande potencial que a semente tem de disseminar doenças, uma das medidas mais eficazes para o controle de doenças é tratamento de sementes na fase que antecede a implantação da cultura, pois visa à redução de custos com defensivos químicos na fase posterior e acarreta em uma menor poluição ao meio ambiente (MACHADO, 2000, p. 138).

A agricultura desde o seu início até o século XIX teve como forma de controle a pragas e doenças agrícolas a utilização de produtos naturais. Muitos dos inseticidas e fungicidas eram à base de *Chrysanthemum*, *cinerariaefolium*, *Chrysanthemum roseum*, *Chrysanthemum coccineum* (fontes de piretro), *Derris* spp. e *Lonchocarpus* spp. (fontes de rotenona) e *Nicotiana* (fonte de nicotina). Durante a Segunda Guerra Mundial grandes áreas de cultivo de plantas que eram utilizadas com finalidade de defensivos naturais foram dizimadas, surge a partir deste momento a fase dos produtos sintéticos, que substituem os defensivos naturais (DARONCO, 2013, p. 15-16).

Desta forma, os métodos de controle fitossanitário com o uso de óleos essenciais surgem como meio alternativo no tratamento de sementes (CAMPANHOLA & BETTIOL, 2003, p. 279).

Os óleos essenciais podem ter sua composição influenciada por fatores genéticos, porém os fatores ambientais podem influenciar, ocasionando variações em sua composição. A época de colheita, o horário e o modo de secagem do material vegetal, também podem ter influência sobre a composição e o teor do óleo (SILVA, et al., 2003, p. 63-70).

Óleos essenciais são substâncias voláteis obtidas de partes de plantas por meio de destilação por arraste de vapor d'água, segundo definição da ISO (International Standard Organization), os seus constituintes são bastante variáveis, porém sempre tem um composto majoritário e outros em menores quantidades (ABREU, 2006, p.7).

Os óleos essenciais são compostos principalmente de mono e sesquiterpenos e de fenilpropanoides, metabólitos secundários que conferem suas características organolépticas, podem ser utilizados na fabricação dos mais variados produtos (DARONCO, 2013, p. 16).

Devido ao fato das plantas apresentarem uma ampla diversidade de substâncias em sua composição, muitas vezes com potencial fungicida ou fungistático, se faz necessário o estudo de maneira mais profunda, com âmbito de aplicação ao produtor, bem como servir de matéria-prima para síntese de novos fungicidas (CELOTO et al., 2008, p.1-5; GARCIA et al, 2012, p. 48), ou ainda serem utilizadas na indução de resistência às plantas (STANGARLIN, 2007, p .95).

Diante da alta demanda por alimentos em meio a crescente preocupação com o meio ambiente e com a segurança pública, aumentou-se a busca por alternativas de tratamentos de sementes, assim como, as técnicas mais adequadas para a manipulação dessas sementes, para que estas mantenham a sua potencialidade não comprometendo a sua taxa germinativa e o seu vigor (TICIANI, 2013, p.13).

A utilização de óleos essenciais na agricultura ainda demandam estudos criteriosos, mas são reflexo da preocupação com o meio ambiente e com a saúde pública (GONÇALVES, MATTOS, MORAIS, 2009, p.105).

### 3.3- Indução de Resistência

A indução de resistência em plantas a patógenos pode ser conceituada como mecanismos de defesa induzidas por agentes bióticos ou abióticos, que confere proteção a planta à um amplo espectro de microrganismos (DURRANT & DONG, 2004, p. 185-209; MAZARO, 2007, p.1824-2825).

Estes mecanismos de defesa contra patógenos podem ser pré-formados ou, pós-formados em resposta ao processo de infecção. Os mecanismos de defesa pré-formados consistem de barreiras físicas, como a parede celular primária, composta de celulose, hemicelulose e pectina e parede celular secundária, podendo essa ser reforçada pela deposição de lignina, impregnação de sílica, ceras, suberina e cutina (RIDE, 1983, p. 215-235). Já os pós-formados, estão ausentes ou em baixo nível antes da infecção, sendo produzidos ou ativados em resposta à presença do patógeno (GARCION et al., 2007, p.109-132.).

Tanto nos mecanismos pré-formados ou pós-formados, os fatores envolvidos na resistência podem ser subdivididos em estruturais ou bioquímicos. Os estruturais atuam como barreiras físicas, enquanto os bioquímicos atuam através da produção de substâncias tóxicas ou repelentes ao patógeno, criando condições adversas ao estabelecimento deste na planta (PASCHOLATI & LEITE, 1994, p. 417-454).

Os agentes indutores capazes de ativar ou induzir qualquer resposta de resistência nas plantas são chamados de elicitores (SMITH, 1996, p. 1-45). Os elicitores podem apresentar natureza química variada, como oligossacarídeos, glicoproteínas, oligopeptídeos ou ácidos graxos, o que demonstra a não existência de característica estrutural única na determinação da atividade elicitora (STANGARLIN et al., 2008, p. 265-304).

Na defesa de plantas, também estão envolvidas as proteínas PR, porém, não são necessariamente identificadas por sua ação antipatogênica, mas sim por seu acúmulo em plantas submetidas à situação de patogênese (VAN LOON, 1997, p. 753-765). Entre as proteínas PR, encontram-se hidrolases como as  $\beta$ -1,3-glucanases e quitinases, evidenciadas principalmente como inibidoras do crescimento fúngico (VAN LOON & VAN STRIEN, 1999, p. 85-97). Essas proteínas, especificamente as quitinases, apresentam ação antibacteriana, em razão



fundamentalmente, de sua ação lisozímica sobre a parede celular (STINTZI et al., 1993, p.687- 706).

Outro mecanismo de indução de resistência, dentre as proteínas-RP ativadas eliciadores, é a fenilalanina amônia-liase (FAL), que atua diretamente no processo de produção de compostos fenólicos e lignificação da parede celular (NAKAZAWA et al., 2001).

### 3.4- Descrição das Espécies dos Óleos Essenciais

#### 3.4.1- Tomilho (*Thymus vulgaris*)

O *Thymus vulgaris* conhecido popularmente como tomilho é uma planta da família Lamiaceae, compreende 150 gêneros, com cerca de 2.800 espécies distribuídas em todo o mundo, sendo o maior centro de dispersão a região do Mediterrâneo. A maioria das espécies introduzidas no Brasil são medicinais ou produtoras de óleos essenciais. (JAKIEMIU et al, 2010; PORTE; GODOY,2001, p. 309).

De acordo com Corticchiato et. al. (1998, p. 920) os óleos essenciais do gênero *Thymus* são muito utilizados como anti-sépticos em diversos compostos farmacêuticos assim como aromatizante para vários produtos alimentares. Há diversos ecótipos de tomilho que se diferenciam em características morfológicas e na composição dos extrativos. São caracterizados por um sabor pronunciado balsâmico e picante e pelo forte e penetrante odor.

Segundo Hudaib et. al. (2002, p. 694) apresentaram que o extrato de tomilho possui propriedades carminativa, expectorante, espasmolíticas e antioxidantes, propriedades estas que estão relacionadas ao timol e carvacrol.

O mesmo autor aponta que os compostos fenólicos, que estão presentes no óleo essencial de tomilho aos dois anos de cultivo, enquanto as plantas com cinco anos apresentam substâncias como  $\gamma$ -terpineno, linalol, borneol, timol, carvacrol metil éter,  $\beta$ -cariofileno e óxido de cariofileno, sendo o timol o componente com maior potencial contra microrganismos.

#### 3.4.2- Pitanga (*Eugenia uniflora*)

A *Eugenia uniflora* L. pertence à família Myrtaceae, é uma planta muito valorizada no Brasil, apresenta frutos comestíveis, suas folhas são utilizadas na

medicina popular para chá, principalmente como hipotensor, antigota, estomáquico e hipoglicemiante (MAZARO, 2008, p. 1825).

O óleo essencial extraído das folhas de pitangueira apresenta propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas com vários compostos como sesquiterpenos, compostos fenólicos, alcalóides, entre outros grupos, com atividade antimicrobiana (AURICCHIO & BACCHI, 2003, 55-61).

Segundo Mazaro et al. (2008, p.1826), a diversidade de metabólitos secundários presentes na pitangueira pode apresentar potencial para utilização de seus compostos na agricultura para ativação de rotas de defesa, com ativação de metabólitos como as fitoalexinas, assim sendo, podem apresentar potencial de utilização no controle alternativo de patógenos em plantas.

### **3.4.3-Limão-Taiti (*Citrus aurantifolia*)**

Planta da família das Rutaceae. conhecida como limão-Taiti, limão, limoeiro, lima-ácida, lime. Trata-se fruto redondo, pequeno e muito suculento. Apresenta casca fina e lisa, de cor verde ou amarela-clara A polpa tem de cinco a seis sementes, é rica em suco e de sabor ácido, porém agradável (LORENZI, 2002).

Gomes et al. (2010) observaram por análise de cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa que o óleo essencial da folha do limão Taiti, apresenta como principais constituintes os compostos limoneno (23,88%), neral (21,95%) e geranial (31,01%), o óleo essencial extraído da casca apresenta somente um constituinte principal, o limoneno, com 49,71%.

#### **3.4.4- Laranja Pêra (*Citrus sinensis*)**

Planta da família das Rutaceas, apresenta origem Asiática (LORENZI, 2002), porém é uma planta que não possui muita informação na literatura em relação a sua composição e suas propriedades.

#### **3.4.5- Guaçatonga (*Casearia sylvestris*)**

Pertencente à família Salicaceae é uma espécie arbórea de pequeno porte nativa de alguns estados brasileiros. O nome genérico *Casearia* é em homenagem ao missionário holandês Casearius (CAMARGO, 2007, p. 2).

Muito utilizada na medicina popular brasileira, suas folhas são utilizadas principalmente para o tratamento de queimaduras, ferimentos, herpes e pequenas injúrias cutâneas. O chá das folhas é usado no combate à bronquite asmática (AGUIAR et. al., 2011, p. 2).

Análises fitoquímicas indicam a presença de óleo essencial em suas folhas, o que justifica seu emprego como cicatrizante, anti-séptico, antimicrobiano e fungicida. Tanto as folhas, quanto a casca e as raízes são consideradas tônicas, depurativas, anti-reumáticas e anti-inflamatórias (FACANALI, 2007).

O gênero *Casearia* tem se caracterizado por apresentar substâncias de interesse como: cumarinas, flavonóides, lignanas, e diversos diterpenos, especialmente clerodânicos. Em relação à constituição de óleos essenciais nas folhas da *C. sylvestris*, observou-se que as folhas apresentavam composição diferente conforme a hora do dia que foi realizado a coleta, porém está presente o biciclogermacreno, germacreno-D,  $\beta$ -cariofileno,  $\delta$ -elemeno, longifoleno,  $\beta$ -gurjuneno,  $\beta$ -selineno, germacreno-B,  $\delta$ -cardineno (TININIS et. al, 2006, p. 134).

### **3.4.6-Louro (*Laurus nobilis*)**

O Louro (*Laurus nobilis*) pertence a família Lauraceae, apresenta uma árvore perenifólia com copa arredondada, apresenta folhas verde escuras coriáceas e aromáticas. A planta tem importância econômica pela utilização de folhas principalmente na culinária como aromatizantes (LORENZI et al, 2003).

É uma planta muito utilizada também com fins terapêuticos (PANIZZA, 1997; LORENZI, 2002). O seu óleo essencial apresenta os seguintes fitoconstituintes: geraniol, cineol, eugenol, linalol, terpineno, pineno, costunolide, deacetilaurebiolide, taninos, açúcares e pectinas (SOUZA, 2010, p. 63).

### **3.4.7- Artemisia (*Artemisia vulgaris*)**

*Artemisia vulgaris* L., pertencente à família Asteraceae, popularmente é chamada de absinto, artemísia-comum, artemísia-verdadeira, artemija, artemige, artimígio, erva-de-são-joão, isopo-santo e losna. (LORENZI & MATOS, 2002).

É uma espécie herbácea, aromática, perene e rizomatosa, originária da Europa ou Ásia e naturalizada em quase todo o mundo. Popularmente é reconhecida por seus efeitos analgésicos, antiespasmódicos e anticonvulsivos, sendo empregada também para dispepsias, astenias, epilepsias, dores reumáticas, febres e anemias (OLIVEIRA, 2007, p. 2).

Na sua composição química destacam-se o óleo essencial rico em terpenos (cineol e tuiona), flavonóides, taninos, saponinas, resinas, artemisina e princípios amargos. A artemisina vem sendo testada com resultados promissores contra malária (LORENZI & MATOS, 2002).

#### **3.4.8- Goiaba (*Psidium guajava*)**

A goiabeira (*Psidium guajava* L.), pertencente à família Myrtaceae, é originária da região tropical da América do Sul, encontrando-se atualmente distribuída por extensas regiões do globo (KITAMI et al., 1997) abrange tanto em regiões selvagens quanto cultivadas, produzindo numerosos frutos comestíveis (HEDSTRÖM 1988, p. 551-553).

Apresenta quantidade regular de ácidos, açúcares, e pectinas. Seus principais constituintes são taninos, flavonóides, óleos essenciais, álcoois sesquiterpenóides e ácidos triterpenóides (ILHA, et al., 2008, p. 388) utiliza-se partes da planta como casca, brotos, folhas e raízes, apresenta atividade antimicrobiana, antimutagênica e atividade hipoglicêmica, dentre outras (GONDIM et al., 2006, p. 312-316; AMARAL et al., 2006, p. 696-720).

#### **3.4.9- Pimenta Rosa (*Schinus terebinthifolius*)**

Pertence à família *Anacardiaceae*, é uma espécie nativa da América Central e do Sul e pode também ser encontrada em regiões semitropicais e tropicais dos Estados Unidos e África. Possui ação antimicrobiana, antiinflamatória e antiulcerogênica, sendo utilizada como antisséptico e no tratamento de estomatites (FREIRES, 2011, p. 42-45,).

Segundo Clemente (2006, p.33) os principais compostos de óleo essencial presente nas folhas da *Schinus terebinthifolius* são os compostos  $\alpha$ -pineno, cis-pinano,  $\beta$ -pineno, sabieno, cis-verbenol, cariofileno,  $\beta$ -citral, acetato de terpelina, elemol, timol,  $\alpha$ -cadinol, 3-careno,  $\alpha$ -filandreno, limoneno, p-cimeno,  $\beta$ -elemeno, isiocariofileno,  $\alpha$ -cubebeno, e  $\beta$ -cadineno.

### **3.4.10- Cravo (*Syzygium aromaticum*)**

A árvore *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry, conhecida popularmente como cravo-da-índia é uma espécie endêmica nas Molucas do na Indonésia difundiu-se pelos alemães desde a colonização para outros países e para outras ilhas do arquipélago. Atualmente os principais produtores de cravo-da-índia são Zanzibar, Madagascar e Indonésia (MAZZAFERA, 2003, p. 231).

A exploração da espécie, ainda menor do que a demanda, ocorre principalmente em função da extração industrial do óleo essencial que pode ser adquirido a partir de seus botões florais, frutos, folhas e outras partes. É comum a utilização popular como especiaria, cosméticos e medicamento, sendo o chá dos botões florais como carminativo e estimulante das funções digestivas. Estudos fitoquímicos do cravo apresentam a presença de até 90% de óleo essencial, composto basicamente de eugenol acompanhado por aproximadamente 60 componentes de menor concentração (LORENZI, 2002).

O mecanismo de ação do eugenol ocorre em nível de membrana plasmática, juntamente com a inativação de enzimas e ou, no material genético celular. É possível que parte do efeito antimicrobiano do eugenol esteja relacionado com a sua natureza fenólica (BOAVENTURA, 2006).

### **3.4.11- Capim Limão (*Cymbopogon citratus*)**

O capim limão, espécie pertencente à família Poaceae, é originário da Índia e bastante difundido no Brasil, principalmente na medicina popular e comumente usado para temperos de alimentos (ABREU, 2006, p.13).

A aplicação do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* como opção no controle fitossanitário vem sendo estudada em vários trabalhos. avaliando o efeito contra o crescimento micelial, uso do óleo como bactericida (MISHRA; DUBEY 1994, p. 1101-1105).

Segundo trabalho realizado por Costa (2005, p.956-959), a composição média do óleo essencial de *C. citratus* foi de: 6-metil-5-hepten-2-ona, linalol, neral, geraniol, geranial, epóxido linaloolóxido, 2-undecanona, tridecanona e citral (neral+geranial).

O componente majoritário do óleo essencial do capim limão é o citral, que é uma mistura de isômeros, conhecida como citral A ou isômero E (geranial) e citral B ou isômero Z (neral) (EL FATTAH et al., 1992, p. 1211-1230; BERTINI et al, 2005).

O citral possui propriedade germicida contra cerca de 20 microrganismos, sendo também utilizado como larvicida, repelente de insetos e ação antifúngicas (MING et al., 1996, p. 555-559; PARANAGAMA et al., 2003, p. 86-90).

Porém, segundo OHNO et al. (2003, p.207-215) a ação bactericida/antifúngica podem estar atuando sozinhos ou sincronizados, portanto se faz necessário examinar separadamente cada componente do óleo essencial como também a sua combinação.

#### **3.4.12- Priprioca (*Cyperus articulatus*)**

A priprioca (*Cyperus articulatus*) é uma espécie do Brasil cultivada por comunidades rurais do Pará e comercializada como planta aromática. Geralmente são cultivadas em quintais, para uso próprio, e em sistema de consórcio com outras culturas, para comercialização (ZOGHBI et al., 2006).

Das plantas aromáticas se extraem os óleos essenciais, descritos como substâncias voláteis, orgânicas, odoríferas, de grande importância para a indústria de perfumaria, que tem interesse crescente em novos aromas de origem natural (MARTIN, 1994, p. 6-26).

#### **3.4.13- Canela (*Cinnamomum zeylanicum*)**

A canela, espécie da família Lauraceae, é uma das especiarias mais antigas no oriente, muito utilizada com outros produtos para embalsamamento de cadáveres (MONTEIRO, 2010, p. 21).



Comercialmente é muito utilizada como especiaria na indústria de doces, na composição dos aromatizantes para bebidas e na produção de incenso. Na medicina tradicional é estimulante, eupéptica, carminativa e antidiarreica (ABREU, 2006, p. 11).

O óleo essencial da canela apresenta qualidade nas suas propriedades, e devido a este fator é bastante valorizado. O rendimento de óleo da casca está em torno de 2%, e das folhas 1%. A composição do óleo essencial é muito variável, podendo apresentar diferenciação de uma espécie para outra, também em função do sistema de cultivo, na sua casca pode ter variação de 60 a 90% de aldeído cinâmico e 10 de eugenol e 10% de aldeído cinâmico e 60 a 95% de eugenol nas folhas (ALBUQUEQUE, 1989).

#### **3.4.14- Melaleuca (*Melaleuca alternifolia*)**

A melaleuca pertence à família Myrtaceae, nativa da Austrália, é uma tradicional planta medicinal utilizada pelos aborígenes daquele continente. O óleo essencial de melaleuca é conhecido como um dos mais importantes antissépticos naturais por sua atividade antimicrobiana e anti-inflamatória (MONDELLO, 2003), é muito usado em dores agudas, picadas, queimaduras, feridas e uma série de infecções. O óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*, possui cerca de 10 componentes (INTERNATIONAL ORGANISATION FOR STANDARDISATION, 1996) entre eles, 1,8-cineol e terpineno4-ol (MONDELLO et. al., 2006, p. 1223-1229; HAMMER, 2003, p. 853-860).

#### **3.4.15 - Gengibre (*Zingiber officinale*)**

*Zingiber officinale* Roscoe conhecido como gengibre, possui rizoma ramificado, de cheiro e sabor picante, agradável (LORENZI & MATOS, 2002), apresenta forte atividade antimicrobiana sendo amplamente utilizada como especiaria da culinária além de ser bem conhecido na medicina tradicional (YADAV et al., 2012, p. 45-50).

Estudos realizados com seus óleos essenciais e extratos de gengibre frente a diversos patógenos alimentares verificaram excelente atividade antimicrobiana, incluindo atividade contra diferentes sorovares de *Salmonella* (SA-NGUANPUAG, 2011, p.895-901; YOUSUFI, 2012, p. 6-8; AHMED, 2012, p. 63-70).

Machado et al. (2003) observaram nos sistemas de produção orgânico e convencional de gengibre os constituintes, respectivamente:  $\alpha$ -zingibereno (20,6%; 24,3%), geranial (21,6%; 17,7%),  $\beta$ -sesquifelandreno (8,5%; 11%),  $\alpha$ -farneseno (6,9%; 8%), cineol (6,0%; 7%), neral (8,2%; 4,9%), geraniol (4,5%; 6,9%) e  $\gamma$ -curcumeno (6,0%; 0,0%).

#### **3.4.16- Eucalipto (*Eucalyptus spp*)**

O Gênero *Eucalyptus* pertence à família das Myrtaceae, apresentado mais de 700 espécies com abrangência cosmopolita. O óleo essencial de *Eucalyptus spp* apresenta maior concentração nas folhas, onde são produzidos em pequenas cavidades globulares, denominadas glândulas e são distribuídas em todo parênquima das folhas de várias espécies de *Eucalyptus*. Observando contra a luz é possível visualizar essas glândulas como pequenos pontos (VITTI; BRITO, 2003, p.26).

O óleo essencial das folhas do *Eucalyptus* exala um cheiro forte, apresenta-se em forma de um líquido incolor amarelado, aromático, de misturas complexas de compostos orgânicos voláteis de hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, cetonas, sendo constituídos de monoterpenos(C10) e sesquiterpenos(C15)( P28). O óleo de *Eucalyptus spp*. tem uma grande aplicabilidade na área ambiental, econômica, farmacêutica e medicinal. Apresenta propriedades terapêuticas antifúngicas, antibacteriana, antisséptica, cicatrizante, anti-inflamatória (SIMÕES et al., 2000, p.821).

## **4- METODOLOGIA**

O experimento foi conduzido no ano de 2015, no Laboratório de Fitossanidade e no Laboratório de Sementes da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Dois Vizinhos, Paraná (PR).

### **4.1- Obtenção do *Fusarium oxysporum* e Inoculação**

Os isolados fúngicos de *Fusarium oxysporum* foram obtidos da coleção de fungos do laboratório de Fitopatologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR, PR. Estes foram cultivados em BDA (batata-dextrose-ágar) e mantidos a  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas de luz e utilizados com 10 dias de crescimento em BDA. O processo de inoculação realizou-se pela utilização deste fungo repicado, onde depositou-se na placa de petri<sup>®</sup> as sementes de tomate, que ficaram expostas a este fungo por um período de 48 horas, mantidos em Câmara Incubadora para BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio), com temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas de luz.

### **4.2 – Tratamento das Sementes**

Foram utilizadas vinte sementes por repetição, os quais foram acondicionados em embalagens de inox tipo cadinho. Com uma micropipeta aplicou-se 20 µl de óleo essencial em papel filtro, após este processo, os cadinhos foram lacrados por um período de 24 horas, onde as sementes ficaram expostas à volatilização. Na testemunha utilizou-se papel filtro com a adição de água destilada o qual teve o mesmo período de exposição que os demais tratamentos.

Os óleos essenciais são provenientes da empresa Garden city<sup>®</sup> - São Paulo, extraído por arraste de vapor e com 100% de pureza.

### **4.3- Germinação das Sementes Inoculadas com *Fusarium oxysporum***

Utilizou-se para o teste de germinação o papel Germitest® em forma de rolo, umedecido com água destilada na quantidade equivalente a 2,5 vezes o seu peso de matéria seca.

Na folha do papel Germitest® foram dispostas 2 fileiras de sementes de tomateiro, 10 sementes cada fileira, da cultivar Santa Cruz Kada, após a inserção sobre o papel, colocou-se outra folha de papel Germitest® sobre as sementes, formando um rolo, o qual foi amarrado. Juntou-se as quatro repetições e depositou-se em uma sacola plástica, armazenando-as por sete dias na câmara germinadora, com temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas.

Decorrido o período de sete dias, as plântulas foram avaliadas de acordo com os seguintes parâmetros: plântulas normais e anormais, sementes não germinadas e tamanho de plântula. Após essas análises, as plântulas foram armazenadas em papel alumínio e levadas a ambiente refrigerado, para então serem submetidas às análises bioquímicas, conforme a descrição apresentada no item 4.4.

### **4.4- Metodologias das Análises Bioquímicas**

Após as análises de germinação as amostras de plântulas foram imediatamente armazenadas em papel alumínio e congeladas até as avaliações. As amostras foram uma mescla entre todas as partes do vegetal (cotilédones ou folhas, talo e raízes).

Nas análises bioquímicas a quantificação de proteínas totais, as amostras das plântulas foram maceradas em almofariz com 4 ml de tampão fosfato 0,2 M (pH 7,5). Em seguida, o material foi centrifugado (14.000g / 10 min a 4°C) e o sobrenadante coletado. Para quantificação do conteúdo total de proteínas das amostras empregou-se o teste de BRADFORD, 1976 (p. 248 - 254). A leitura de proteínas totais realizou-se em espectrofotômetro a 595 nm, utilizando soro albumina bovina como padrão.

A determinação da atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL) efetuou-se por quantificação colorimétrica do ácido trans-cinâmico liberado do substrato fenilalanina, conforme metodologia descrita por Kuhn (2007, p140), aonde se indica utilizar 0,25 g da amostra com mais 3,0 mL do tampão TRIS – HCl pH 8,0.

Acondicionou-se o extrato em tubos ependorfe e centrifugou-se por 10 minutos, a 4°C a 6000 rpm. Após, uma alíquota de 200 µL transferiu-se para tubo de ensaio, acrescentando-se mais 3,0 mL do tampão de extração. Agitou-se a solução em vórtex, obtendo-se assim, o extrato enzimático.

Deste extrato, 1,5 mL transferiu-se para outro tubo de ensaio, com mais 1,0 mL do tampão de extração e 0,5 mL de fenilalanina. Novamente, agitou-se a solução em vórtex para homogeneização. E após, os tubos foram incubados em banho-maria por 45 minutos a 40°C. Depois de retirados do banho-maria, os tubos foram colocados em banho de gelo por 5 minutos para interromper a reação e assim poder realizar a leitura em espectrofotômetro a 290 nm.

Para dosagem das atividades de quitinases e  $\beta$ -1,3-glucanase seguiu-se os procedimentos descritos por Wirth e Wolf (1992, p. 511-519), com adequações, sendo que as amostras foram maceradas em 2,0 mL de tampão acetato 100 mM (pH 5,0), com posterior centrifugação (20.000 g por 25 min, a -4 °C).

O sobrenadante foi coletado e utilizado para a avaliação da atividade das enzimas. A atividade enzimática da quitinase foi avaliada através da liberação de oligômeros solúveis de “chitin-azure”, a partir de quitina carboximetilada marcada com remazol brilhante violeta 5R -RBV (Sigma Aldrich®). Para determinação espectrofotométrica das atividades de  $\beta$ -1,3-glucanase nos extratos foi utilizado como substrato curdlan-remazol azul brilhante (Sigma Aldrich® - 4 mg.ml<sup>-1</sup>).

#### 4.5 - Experimento *in vitro*

Utilizando os óleos essenciais das seguintes espécies: Tomilho (*Thymus vulgaris* L.); Pitanga (*Eugenia uniflora*); Limão Taiti (*Citrus aurantifolia*); Laranja Pêra (*Citrus sinensis* L. Osbeck); Guaçatonga (*Casearia sylvestris* Sw.); Louro (*Laurus nobilis*); Artemisia (*Artemisia vulgaris* L.); Goiaba (*Psidium guajava* L.); Pimenta Rosa (*Schinus terebinthifolius* L.); Cravo (*Dianthus caryophyllus*); Capim Limão (*Cymbopogon citratus*); Priprioca (*Cyperus articulatus* L.); Canela (*Cinnamomum zeylanicum*); Malaleuca (*Melaleuca alternifolia*); Gengibre (*Zingiber officinale*) e Eucalipto (*Eucalyptus spp*) e também como testemunha o papel filtro com água destilada.

Após verter o meio de cultura BDA (batata dextrose e ágar) em placas de Petri<sup>®</sup>, adicionou-se discos de 3 mm de diâmetro de micélio de *Fusarium oxysporum* em cada uma das placas. Após aplicou-se 15 µl de cada óleo em fitas de papel filtro de 1 cm, que foram fixados nas tampas das placas de Petri<sup>®</sup>. Na testemunha colocou-se a mesma quantidade de água destilada. Em seguida, as placas foram incubadas à 25°C ± 2°C com fotoperíodo de 12 horas. A avaliação do efeito fungicida ou fungistático do óleo realizou-se até a testemunha atingir a borda da placa de Petri<sup>®</sup> com o crescimento da colônia.

O crescimento micelial, foi realizado por medição dos diâmetros das colônias em dois sentidos perpendiculares entre si (média de duas medidas diametralmente opostas). Após a instalação do experimento as avaliações foram efetuadas diariamente até que as colônias no tratamento controle cobriram completamente a superfície do meio de cultura.

#### 4.6- Análises dos Dados

Para os dois experimentos o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os dados foram tabulados e submetidos aos testes de análise de variância, pelo teste de Scott-Knott ( $p=0,05$ ), com auxílio do *software* Assistat<sup>®</sup>

## 5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação da variável tamanho de plântulas, demonstrou que os tratamentos com os óleos essenciais de cravo, melaleuca e eucalipto estimularam o processo de crescimento, apresentando tamanho superior à testemunha. Os tratamentos com demais óleos essenciais, com exceção da canela, apresentam tamanhos normais comparando-se a testemunha. Nas plântulas que efetuou-se o tratamento de sementes com o óleo essencial de canela, apresentaram uma inibição na germinação (Tabela 01).

**Tabela 01.** Tamanho de plântulas, plântulas germinadas normais e plântulas não germinadas e anormais, submetidas ao tratamento de sementes pelo processo de volatilização com diferentes óleos essenciais. UTFPR - Dois Vizinhos, PR, 2015.

Tratamentos	Tamanho de Plântulas (%)	Germinadas Normais (%)	Não germinadas e anormais (%)
Testemunha	12,31 b *	10,25 b	9,75 c
Tomilho	10,77 b	12,00 a	8,00 c
Pitanga	12,71 b	7,75 b	12,25 b
Limão-taiti	11,72 b	9,25 b	10,75 b
Laranja Pêra	13,71 b	11,25 a	8,75 c
Guaçatonga	11,97 b	8,50 b	11,50 b
Louro	12,65 b	9,75 b	10,25 b
Artemisia	12,59 b	15,00 a	5,00 c
Goiaba	11,95 b	8,50 b	11,50 b
Pimenta Rosa	12,80 b	13,75 a	6,25 c
Cravo	14,35 a	14,50 a	5,50 c
Capim-limão	13,27 b	11,75 a	8,25 c
Priprioca	12,34 b	9,75 b	10,25 b
Canela	5,75 c	2,50 c	17,50 a
Melaleuca	16,70 a	15,50 a	4,50 c
Gengibre	13,79 b	13,25 a	6,75 c
Eucalipto	15,53 a	13,25 a	6,75 c
CV%	13,77	18,52	20,50

\*Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Sott-Knott 5%.

Os dados obtidos no experimento, onde se realizou o tratamento de sementes com os óleos de Tomilho, Laranja Pêra, Artemisia, Pimenta Rosa, Cravo, Capim-limão, Malaleuca, Gengibre e Eucalipto demonstraram ação na melhoria dos



parâmetros relacionados germinação, apresentando as melhores médias nas plântulas com germinação consideradas normais. Os tratamentos com os óleos essenciais de pitanga, guaçatonga, louro, goiaba, pirioca e a testemunha apresentaram valores de médias inferiores aos demais, com exceção ao óleo essencial de canela, que acabou inibindo o processo germinativo (Tabela 01).

Possivelmente, a melhoria da qualidade dos parâmetros relacionados à germinação, está relacionada ao potencial do ingrediente ativo destes óleos essenciais em atuar sobre o metabolismo primário das plantas, envolvido ao processo de germinação, como na conversão de amido para açúcares simples, substratos estes, utilizados no processo germinativo.

Para o óleo de canela o efeito foi prejudicial ao processo germinativo, atuando de maneira fitotóxica ao tecido vegetal.

Embora os óleos essenciais apresentem um grande potencial na agricultura sustentável, esses compostos vegetais podem prejudicar o desenvolvimento e a germinação de plantas (BRUM, 2012, p. 20). Grosso et al. (2010, p. 11007-11013) destacam que os mono e sesquiterpenos podem afetar os processos fisiológicos de plantas.

Ainda em estudos realizados por Rai et al. (2003, p.121-124), verificaram a inibição da abertura estomática de *Vicia faba* por monoterpenos voláteis de folhas de *Prinsepia utilis*. Dequech et al. (2008, p.76) observaram que plantas de feijão-de-vagem quando tratadas com óleo comercial de nim sofreram injúrias, apresentando necrose e descoloração de folhas.

Em outro estudo, Gonçalves (2009, p.105-106) trabalhando com a sanidade de sementes de soja, utilizando óleo essencial de gengibre, teve como resultado a redução total do número de sementes infestadas com *Fusarium* spp. O autor observou também, que o óleo essencial de gengibre apresenta atividade positiva no controle de patógenos de grãos de soja, podendo este ter grande potencial para a utilização como defensivo natural. Neste mesmo estudo, o autor constatou que com o óleo essencial de Limão-taiti apresentou 15% de sementes infestadas.

Em estudo realizado por Morais et al. (2008), em tratamento de sementes de soja utilizando óleo essencial de *Melaleuca* sp. com relação à sanidade, não observou-se diferença estatística significativa no controle de *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. e *Alternaria* sp., pois não apresentou controle desses patógenos no experimento realizado.

Diante do estudo em questão, considera-se que a redução na germinação das sementes de *S. lycopersicum*, pode estar atrelada ao efeito inibidor do ácido cinâmico. Em relação ao óleo de canela, Alves et al. (2004, p.1084) constataram que o componente predominante é o ácido cinâmico, o qual, segundo Simões & Spitzer (1999, p. 397-425), indiretamente é responsável pela inibição da germinação e do crescimento de plantas.

Segundo Reigosa et al. (1999, p. 577- 608) e PETERSEN et al. (2001, p.37-43), os efeitos dos aleloquímicos nos diferentes processos fisiológicos de uma planta são altamente relacionada as concentrações, promovendo ativações em baixas concentrações e inibições em altas concentrações. Como o presente trabalho, avaliou somente uma concentração, tal situação sugere maiores estudos para apontar qual seriam as concentrações que não causam danos ao processo germinativo.

A inibição da germinação da semente de tomateiro utilizando o óleo essencial de canela, pode estar relacionada à concentração do óleo essencial, Alves et al. (2004,p.1084) constataram que a porcentagem de germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) em baixas concentrações do óleo de canela, favoreceram a germinação, no entanto, as concentrações intermediárias a alta, inibiram tanto a germinação das sementes como o crescimento das raízes das plântulas.

Quanto às análises bioquímicas, observou-se um aumento significativo na atividade da enzima FAL, sendo todos os tratamentos melhores que a testemunha, porém os óleos essenciais que se destacaram com um aumento mais significativo foram pitanga, artemisia, pimenta rosa, pirioca, gengibre e eucalipto ( TABELA 02).

Verificou-se que na atividade da enzima quitinase, os tratamentos que apresentaram destacáveis aumentos enzimáticos, foram os tratamentos com os óleos essências pitanga, louro e capim limão.

Nas enzimas  $\beta$ -1,3 glucanase, os tratamentos com o óleo essencial de pitanga, guaçatonga, artemisia, pimenta rosa e gengibre apresentaram um aumento expressivo na atividade desta enzima, nos demais tratamentos a atividade apresentou-se normal, não diferindo da testemunha (Tabela 02).

Diante do fato, que as sementes que foram expostas ao tratamento com o óleo essencial de canela, apresentaram inibição na germinação, não teve material vegetal suficiente para estar realizando as análises bioquímicas.

**Tabela 02.** Atividade enzimática das proteínas quitinase e glucanase de plântulas de tomateiro (Unidade enzimática/min/g tecido fresco). UTFPR - Dois Vizinhos, PR, 2015.

Tratamentos	FAL	Quitinase	Glucanase
Testemunha	0,2621 c *	0,00017 b	0,0381 b
Tomilho	0,0404 b	0,00033 b	0,0301 b
Pitanga	0,0544 a	0,00105 a	0,0505 a
Limão-taiti	0,0375 b	0,00044 b	0,0374 b
Laranja Pêra	0,0382 b	0,00044 b	0,0290 b
Guaçatonga	0,0440 b	0,00022 b	0,0571 a
Louro	0,0376 b	0,00088 a	0,0276 b
Artemisia	0,0587 a	0,00033 b	0,0424 a
Goiaba	0,0406 b	0,00024 b	0,0345 b
Pimenta Rosa	0,0543 a	0,00030 b	0,0547 a
Cravo	0,0435 b	0,00027 b	0,0340 b
Capim-limão	0,0390 b	0,00093 a	0,0272 b
Pripioca	0,0525 a	0,00015 b	0,0405 b
Melaleuca	0,0392 b	0,00028 b	0,0303 b
Gengibre	0,0501 a	0,00025 b	0,0436 a
Eucalipto	0,0535 a	0,00024 b	0,0350 b
CV%	12,89	26,84	21,38

\*Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Sott-Knott 5%.Dados quitinase todos transformados em Arcoseno (x).

Na sua grande maioria, os óleos essenciais demonstraram potencial de ativação do metabolismo das proteínas, tal fato é importante, pois ativação do metabolismo primário através do aumento dos níveis de proteína é um indicativo da ativação de enzimas relacionadas à defesa vegetal. Neste sentido, os óleos propiciaram a ativação da rota dos fenilpropanóides, através da enzima FAL, o que dá uma conotação de ativação de mecanismos de indução de resistência.

Esta rota dos fenilpropanóides é uma das mais importantes no processo de defesa vegetal, pois está relacionada no processo de formação de compostos fenólicos. Entre os principais compostos fenólicos estão as fitoalexinas, antocianinas, flavonóides, bem como a formação de lignina.

Um segundo mecanismo de indução de resistência comprovado neste trabalho, foi ativação das enzimas hidrolíticas quitinases e  $\beta$ -1-3 glucanases. Neste sentido, apresentaram potencial para ativar as quitinases os óleos de pitanga, louro

e capim limão e para ativar as  $\beta$ -1-3 glucanases os óleos de pitanga, guaçatonga, artemisia, pitanga rosa e gengibre.

Possivelmente, estes óleos possuem em seus ingredientes ativos, moléculas indutoras que são reconhecidas por receptoras das células, desencadeando o processo de indução de resistência para a síntese destas enzimas, suas ações podem ser diretamente sobre o patógeno ou então armazenadas no vacúolo para serem utilizadas quando apresentarem infecção por fitopatógenos (STANGARLIN et al., 2011 p. 27)).

As plantas medicinais e aromáticas apresentam em sua composição substâncias capazes de exercer funções importantes na interação planta-patógeno, seja por ação fungitóxica (PINTO; SOUZA; OLIVEIRA, 2010, p.838-842) bactericida (LUCAS, 2009; p.84) ou pela indução de respostas de defesa da planta (GULERIA; KUMAR, 2006, p.81-86; LUCAS et al., 2012, p.45-51). Defesa a qual pode ocorrer por meio da produção de fitoalexinas, aumento da atividade de proteínas relacionadas à patogênese (PRPs) e da síntese de outros compostos bioquímicos e estruturais de defesa (BALPI-PENA et al., 2006 p. 310-314; LUCAS et al., 2012, p.45-51; SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN; CRUZ, 2003, p. 554-556).

Uma avaliação conjunta do potencial dos óleos, demonstra que os mesmos apresentam especificidade, o que possivelmente está relacionado ao ingrediente ativo presente em cada óleo. De maneira geral, os óleos atuam de forma direta sobre o fitopatógeno, bem como, ativam a indução de resistência através de duas rotas de indução de resistência vegetal, sendo a rota de ativação dos fenilpropanóides para a formação dos compostos fenólicos, bem como, a rota de síntese de enzimas hidrolíticas (quitinases e  $\beta$ -1,3 glucanases).

Segundo Pereira et al. (2012), o óleo essencial de capim-limão apresentou aumento da atividade de quitinase e  $\beta$ -1,3 glucanases, quando submetido ao tratamento da pinta preta do tomateiro, esta ativação ocorreu principalmente após a inoculação com o patógeno e apresentou aumento na lignificação da parede celular, doze dias após a aplicação do óleo essencial.

Lucas et al. (2012, p.41-51), trabalhando com o cravo-da-índia, observaram redução da mancha bacteriana no tomateiro. A resistência, segundo os autores podem ser evidenciados pelo aumento das atividades enzimáticas relacionadas com a defesa, quitinase e  $\beta$ -1-3 glucanases, além de proporcionar maiores aumentos de ligninas e de outros compostos fenólicos.

Sugere-se trabalhos futuros, com a realização de cromatografia dos óleos que apresentaram potencial, bem como fracionamento e isolamento dos constituintes majoritários em estudos mais especializados.

Conforme observado no experimento *in vitro*, os óleos essenciais de tomilho, limão-taiti, louro, artemisia, pimenta rosa e cravo apresentaram efeito fungicida, não ocorrendo desenvolvimento do micélio de *F. oxysporium* no meio de cultura. Os óleos essenciais de pitanga, laranja pêra e guaçatonga apresentaram potencial fungistático, suprimindo o crescimento micelial. O óleo de goiaba e priprioca não apresentaram ação sobre o patógeno, não diferindo da testemunha (Tabela 03).

Possivelmente, o efeito fungicida atuou degradando a parede celular do fungo, ocorrendo o extravasamento celular ou a formação de compostos tóxicos, propiciando a morte do mesmo. Da mesma forma o efeito fungistático dos compostos ativos dos óleos pode ter atuado de forma danosa ao tecido celular, resultando em um menor crescimento e desenvolvimento micelial.

Guimarães et al. (2011, p. 469) avaliando a atividade do óleo essencial de capim-limão através da fumigação *in vitro*, observaram alta fungitoxicidade do óleo sobre os fungos fitopatogênicos *Alternaria alternata*, *C. gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense* e *Bipolaris* sp.

Estudo realizado por Romero (2009, p. 16), observou quanto à atividade antifúngica, que o óleo essencial de tomilho apresenta expressivo efeito frente aos microorganismos *Myrothecium verrucaria*, *Corynespora cassiicola*, *Erwinia psidii*, *Sclerotinia minor* e *Colletotrichum musae*. No tomilho os principais compostos presentes no óleo essencial são o timol e o carvacrol, estas substâncias geralmente estão associados à atividade antimicrobiana (ALVES, 2010, p.25-26).

**Tabela 03.** Crescimento micelial do fungo *Fusarium oxysporum* submetido aos tratamentos com óleos essenciais por volatilização (Unidade de crescimento cm). UTFPR Dois Vizinhos, PR, 2015.

Tratamentos	Crescimento Micelial
Testemunha	7,00 a *
Tomilho	0,00 e
Pitanga	3,22 c
Limão-taiti	0,00 e
Laranja Pêra	2,06 d
Guaçatonga	3,60 c
Louro	0,00 e
Artemisia	0,00 e
Goiaba	7,00 a
Pimenta Rosa	0,00 e
Cravo	0,00 e
Capim-limão	5,26 b
Priprioca	7,00 a
Canela	0,00 e
Melaleuca	0,00 e
Gengibre	0,00 e
Eucalipto	0,00 e
CV %	26,18

\*Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Sott-Knott 5%.

Salgado et al. (2003, p.251) avaliaram a atividade fungitóxica do óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus camaldulensis* e *Eucalyptus urophylla* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana* e observaram redução micelial pelos três óleos. A maior ação fungitóxica foi do óleo essencial de *Eucalyptus urophylla*. Esta atividade foi atribuída ao sesquiterpeno globulol, composto majoritário deste óleo essencial, não detectado nos demais.

Diante disto, observa-se que a concentração dos compostos dos óleos essenciais são muito variáveis entre espécies, sendo assim, o óleo essencial de eucalipto trabalhado no presente trabalho, apresentava altas taxas de sesquiterpeno globulol, pois apresentou efeito fungitóxico.

Análises fitoquímicas identificaram que os princípios bioativos das plantas do gênero *Schinus* sp., em especial da espécie *Schinus terebinthifolius*, apresentam

diversos compostos como triterpenos (WHITE, 2007, p.184) flavonóides, esteróides, taninos (JOHANN, 2007) e um inibidor da secreção de fosfolipase A<sub>2</sub> (MAHENDRA, 1995, p.47).

Ponce et al. (2003, p. 679-684), constataram que a atividade microbiana do óleo essencial do *Syzygium aromaticum* na concentração de 0,04 a 0,05 mL/100 mL, foi suficiente para inibição do crescimento de bactérias. Souza et al. (2004, p.687) nas concentrações de 200; 400; 600 e 800 µg/mL., para inibição de *Rhizopus* sp.; *Penicillium* spp., *Eurotium repens* e *Aspergillus niger*. O mesmo autor observou que o óleo essencial da canela inibiu completamente o desenvolvimento dos fungos a partir da concentração de 200 µg/mL.

Segundo Bullerman et al. (1977, p. 1107-1109) o óleo essencial de canela a 200 mg/mL e de cravo a 250 g/mL foram inibidores do desenvolvimento e da produção de toxina de *Aspergillus parasiticus*, devido a presença do aldeído cinâmico e o eugenol, principais constituintes desse óleo essencial.

Tendo em vista que este trabalho utilizou o processo de volatilização do óleo essencial no controle do fungo *Fusarium oxysporum*, e os trabalhos contidos na literatura aplicam o óleo essencial junto ao meio, desta forma, maiores estudos, até mesmo para encontrar a concentração de óleo que é mais adequado para o controle de cada fungo em questão.

## 6 - CONCLUSÃO

Todos os óleos essenciais demonstraram potencial de indução de resistência, ativando a rota dos fenilpropanóides, por meio da ação da enzima FAL. Um segundo mecanismo de indução de resistência comprovado neste trabalho foi ativação das enzimas hidrolíticas quitinases e  $\beta$ -1-3 glucanases. Neste sentido, apresentaram potencial para ativar as quitinases os óleos de pitanga, louro e capim limão e para ativar as  $\beta$ -1-3 glucanases os óleos de pitanga, guaçatonga, artemisia, pimenta rosa e gengibre.

No experimento *in vitro*, os óleos de tomilho, limão-taiti, louro, artemisia, pimenta rosa, cravo, canela, melaleuca, gengibre e eucalipto apresentaram efeito fungicida, não ocorrendo desenvolvimento do micélio de *F. oxysporium* no meio. Já os óleos essenciais de pitanga, laranja pêra, guaçatonga e capim-limão apresentaram potencial fungistático, suprimindo o crescimento micelial. Os óleos essenciais de pirioca e goiaba não apresentaram ação sobre o patógeno.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, C. M. de. Controle de *Alternaria solani* em Tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) com Óleos Essenciais. 71f. 2006, **Tese de Doutorado**, UNESP, Botucatu - SP.

AGUIAR, A. R. et al. Germinação de sementes imaturas e crescimento vegetativo DE *Casearia sylvestris* por *Trichoderma* spp. **XV Simpósio de Ensino Pesquisa e Extensão**. Universidade Federal de Santa Maria – RS, 2011.

AHMED, S.A et al. Study the antibacterial activity of *Zingiber officinale* roots against some of pathogenic bacteria. **Al-Mustansiriya Journal Science**, v.23, n.3, p.63-70, 2012.

ALVES, M.C.S., MEDEIROS FILHO, S., INECCO, R., TORRES, S.B. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.11, p.1083-1086, 2004.

ALVES, R. S., Avaliação da atividade antimicrobiana entre os óleos essenciais obtidos de folhas de manjerição, pimenta de macaco e tomilho sobre patógenos veiculados por alimentos. **Dissertação (mestrado)** Universidade Federal de Lavras–Lavras, Minas Gerais, p. 25-26, 2010.

ALBUQUERQUE, J. M., **Plantas medicinais de uso popular**. Brasília, ABEAS/MEC, 1989. 96p.

AMARAL, F.M.M.; RIBEIRO, M.N.S.; BARBOSA-FILHO, J.M., REIS, A.S.; NASCIMENTO, F.R.F.; MACEDO, R.O.; 2006. Plants and chemical constituents with giardicidal activity. **Rev Bras Farmacogn** 16 (Supl.): p.696-720.

AURICCHIO, M. T.; BACCHI, E. M. M. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitangueira): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo (SP), v. 62, n. 1, p. 55-61, 2003.

BALBI-PEÑA, M. I. et al. Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e cumarina: I., avaliação *in vitro*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília , v. 31, n. 3, p. 310-314, mai/jun. 2006.

BRITO, O. G. et. al. Ocorrência de doenças em tomateiro industrial (*Solanum lycopersicum*) submetido a manejo convencional e integrado. 3f, 2012. 1º Seminário de **Iniciação Científica e 1ª Mostra de Trabalhos Científicos Do IFNMG**. Instituto Federal do Norte de Minas Gerais, Salinas – MG, 2012.

BEDENDO, I.P. *Damping-off*. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.1, p.820-828, 1995.

BEDENDO, I.P.; MASSOLA JÚNIOR, N.S.; AMORIM, L.; Controles cultural, físico e biológico de doenças de plantas. In: AMORIM, Lilian; REZENDE, Jorge Alberto Marques; BERGAMIN FILHO, Armando. Manual de Fitopatologia 1: Princípios e Conceitos. Cap. 17. São Paulo: **Agronômica Ceres**, p. 367-388, 2011.

BERTINI, L.M. et al. Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do nordeste do Brasil. **Infarma**, Brasília, v. 17, n. 3/4, 2005.

BOAVENTURA A. O. et al. Avaliação das atividades antifúngicas e antibacterianas do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L.). **Anais do CNPq**. Belo Horizonte (MG), 2006.

BRADFORD, M. M.; A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Orlando (FL), v. 72, p. 248 - 254, 1976.

BRUM, R.B.C.S. Efeito dos óleos essenciais no controle de fitopatógenos. 2012. 135f. **Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal – Área de concentração em fitopatologia)** – Universidade Federal do Tocantins, Guarupi – To. 2012.

CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. Panorama sobre o uso de agrotóxicos no Brasil, In: CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. (Ed.) Métodos alternativos de controle fitossanitário. Jaguariúna: **EMBRAPA MEIO AMBIENTE**, p.13-51, 2003.

CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. Métodos alternativos de controle de fitossanitário. Jaguariúna: **EMBRAPA**, 2003. 279p.

CANTU, R.R. Desempenho de porta-enxertos de tomateiro em resistência a nematoides, murcha-de-fusário e produção da planta enxertada. 2007. 73f. **Dissertação (Concentração em Horticultura)** – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu – SP, 2007.

CAMARGO, J.L.C.; FERRAZ, I.D.K.; PROCOPIO, L.C. Castanha-de-macaco *Cariniana micrantha* Ducke. **Informativo Técnico Rede de Sementes da Amazônia**, Manaus, n.15,p.2, 2007.

CELOTO, M. I. B.; PAPA, M. F. S.; SACRAMENTO, L. V. S.; CELOTO, F. J. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 30, n. 1, p. 1-5, 2008.

CLEMENTE, A. D. Composição química e a atividade biológica do óleo essencial da pimenta-rosa *Schinus terebinthifolius*. 50f. 2006. **Tese (Programa de Pós-Graduação em Agroquímica)**. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa – MG, 2006.

CORTICCHIATO, M; TOMI, F; BERNARDINI, A.F; CASANOVA, J. Composition and infraspecific variability of essential oil from *Thymus herba barona* Lois. **Biochemical Systematics**

COSTA, L. B.; CORRÊA, R. M.; CARDOSO, J. C. W.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; FERRI, P. H. Secagem e Fragmentação da Matéria Seca no Rendimento e Composição do Óleo Essencial de Capim-limão. **Revista Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 4, p. 956-959, 2005.

DARONCO, M. V. **Óleos Essenciais no Tratamento de Sementes de Soja (*Glicine max L.*)**. 2013, 50f. Trabalho de Conclusão de Curso. UNIJUÍ, Ijuí, 2013.

DEQUECH, S. T. B.; RIBEIRO, L. P.; SAUSEN, C. D.; EGEWARTH, R.; KRUSE, N. D. Fitotoxicidade causada por inseticidas botânicos em feijão-de-vagem (*Phaseolus vulgaris L.*) cultivado em estufa plástica. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v. 15, n.1, p. 71-80, 2008.

DURRANT, W.E.; DONG X. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v.42, p.185-209, 2004.

FACANALI, R. Ecologia de populações de espécies prioritárias para conservação e uso: um estudo de caso, usando como modelo a *Casearia sylvestris* Sw. **Monografia**. UNICAMP, 2004.

FREIRES, I. A.; ALVES, L. A.; JOVITO, V. C.; CASTRO R. D. **Revista Odontológica Brasil Central**, v20, n.52, p 42-45, 2011.

GARCIA, R. A. Atividade antifúngica de óleo e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. **Revista Bioscience Journal**, V28, n.1, p.48-57, 2012.

GARCION, C.; LAMOTTE, O.; MÉTRAUX, J. P. Mechanisms of defence tpathogens: biochemistry and physiology. In: WALTERS, D.; NEWTON, A.; LYON, G (Ed.). Induced resistance for plant defence – a sustainable approach to crop protection. **Oxford**: Blackwell, 2007. p109-132.

GOMES, M. S.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; MACHADO, S. M. F.; MIRANDA, C. A. S. F.; ANDRADE, J.; SILVA, L. S.; TEIXEIRA, M. L. Óleo essencial das folhas e cascas de limão taiti: caracterização química e atividade sobre *fusarium oxysporum*. **Anais**. 50° Congresso Brasileiro de Química. Cuiabá – MT, outubro de 2010.

GONDIM, ANS, OLIVEIRA, VR, Silva LR, SILVA, BA, CONDEGARCIA, EA 2006. Complete atrioventricular block on isolated guinea pig heart induced by an aqueous fraction obtained from *Psidium guajava L.* leaf. **Rev. Bras. Farmacogn**, 16: 312-316.

GONÇALVES, G. G.; MATTOS, L. P. V.; MORAIS, L. A. S. Óleos Essenciais e Extratos Vegetais no Controle de Fitopatógenos de Grãos de Soja . **Revista Brasileira de Horticultura**, v.27, n.2, pg:102-107, 2009.

GRAÇA, A. J. P. Heterose e Capacidade Combinatória de Linhagens de Tomateiro (*Solanum Lycopersicum* L.) Prospectadas para Dupla Finalidade. 2013, 61f. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Estadual Do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes.

GURGEL, L.M.S. et. al. Proteção a Murcha de Fusário do Tomateiro com Acibenzolar-SMetil e Ácido  $\beta$ -Aminobutírico, em Campo. **Revista Brasileira de Fitopatologia**, Recife – PE, v.30, n.6, p.655-657, 2005.

GULERIA, S. KUMAR, A. Azaridachtha indica leaf extract induces resistance in sesame against Alternaria leaf spot disease. **Journal of Cell and Molecular Biology**, Isbanbul, v.5, n. 1, p.85-86, Jan, 2006.

GROSSO, C.; COELHO, J. A.; URIETA, J. S.; PALAVRA, A. M. F.; BARROSO, J. G. Herbicidal activity of volatiles from coriander, winter savory, cotton lavender, and thyme isolated by hydrodistillation and supercritical fluid extraction. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 20, p. 11007-11013, 2010.

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

HAJI, F.N.P. Controle químico da traça-do-tomateiro *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidóptera: Gelechiidae) no Submédio São Francisco. In: SOCIEDADE ENTOMOLÓGICA DO BRASIL, Jabuticabal, 1986. **Anais**. Jabuticabal, v.15. p.71-80, 1986.

HAMMER, K.A., CARSON, C.F., RILEY, T.V.- Antifungal activity of the oil components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) - **Journal of Applied Microbiology** 2003, 95, p.853-860.

HEDSTRÖM, I. Pollen carriers and fruit development of *Psidium guajava* L. (Myrtaceae) in the neotropic region. **Revista de Biologia Tropical**, v. 36, n. 2B, p. 551-553, 1988.

HUDAIB, M., SPERONI, E., PIETRA, A.M.D., CAVRINI, V. CG/EM evaluation of thyme (*Thymus Vulgaris* L.) oil composition and variations during the vegetative cycle. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. V. 29 p. 691–700, 2002.

ILHA, S. M.; MIGLIATO, K. F.; VELLOSA J. C. R.; SACRAMENTO L. V. S.; PIETRO R. C. L. R.; ISAAC, V. L. B.; BRUNETTI, I. L. CORRÊA, Marcos A.; SALGADO Hérida R. N. Estudo fitoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) com potencial

antioxidante para o desenvolvimento de formulação fitocosmética. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. V18, n3, p387-393, 2008.

INTERNATIONAL ORGANISATION FOR STANDARDISATION (1996) Oil of Melaleuca, Terpinen-4-ol Type (Tea Tree Oil) (ISO 4730:1996). Geneva, Switzerland: **International Organisation for Standardisation**.

JAKIEMIU, E. A. R.; SCHEER, A. P.; OLIVEIRA, J. S.; CÔCCO, L. C.; YAMAMOTO, C. I.; DESCHAMPS, C. Estudo da composição e do rendimento do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris* L.). Semina: **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 683-688, jul./set. 2010

JOHANN, S.; PIZZOLATTI, M. G.; DONNICI, C.L.; RESENDE, M. A.; Antifungal properties of plants used in brazilian traditional medicine against clinically relevant fungal pathogens. **Braz J Microbiol**. 2007;38:632-7.

KITAMI, H. et al. Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. São Paulo: **Agronômica Ceres**, 1997.

KUHN, O. J. Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção. **Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**, Piracicaba (SP), p. 140, 2007.

KUROZAWA, C. & PAVAN, M.A. Doenças do Tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill). In: Kimati, H., Amorim, L., Bergamin Filho, A., Camargo, L.E.A. & Rezende, J.A.M. (Eds.) Manual de Fitopatologia: Doenças de plantas cultivadas, 3.ed., São Paulo: **Agronômica Ceres**, 1997, v.2, p.690-719.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. **Editora Plantarum**. Nova Odessa (SP), p.115, 368, 1998.

LORENZI, H.; MATOS, Francisco José de Abreu. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. **Instituto Plantarum**. Nova Odessa (SP). v. 1, p. 512, 544, 2002.

LORENZI, H. et al. *Laurus nobilis* L. Árvores Exóticas no Brasil: Madeiras, ornamentais e aromáticas. Nova Odessa, SP. **Instituto Plantarum**, 2003, pag 153.

LUCAS, G. C. Óleos Essenciais no Controle da Mancha Bacteriana no Tomateiro.2009. 93f. **Dissertação (mestrado)**. **Universidade Federal de Lavras – Lavras**, Minas Gerais, p. 80, 2009.

LUCAS, G.C. et. al. Indian clove essential oil in the control of tomato bacterial spot. **Journal of plant Pathology**, Wageningen, v.94,n.1, p.45-51. Jan 2012.

MACHADO, J. C. Tratamento de Sementes no controle de doenças. Lavras: LAPS/UFLA/FAEPE, 2000. 138p.

MACHADO, J.C.; OLIVEIRA, J.A.; VIEIRA, M.G.G.C.; ALVES; M.C; Inoculação artificial de sementes de soja por fungos, utilizando solução de manitol. **Revista Brasileira de Sementes** 23:95-101, 2001.

MACHADO, G.C. et al. **Composição química de amostras de gengibre (*Zingiber officinale*) de cultivo convencional e orgânico**. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 26, 2003, Maringá. **Anais**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná.

MARTIN, N.B. Custos: sistema de custos de produção agrícola. **Informações econômicas**, v. 24, n. 9, p.6-26, 1994.

MASSOLA JÚNIOR, N. S.; KRUGNER, T. L. Fungos Fitopatogênicos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. Manual de Fitopatologia 1: Princípios e Conceitos. Cap. 8. São Paulo: **Agronômica Ceres**, p. 149-206, 2011.

MAZZAFERA Paulo. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Revista Brasil**. Campinas (SP), v.26, n.2, p.231-238, 2003.

MAZARO, S. M; CITADIN, I.; GOUVÊA, A.; LUCKMANN, D.; GUIMARÃES, S. S. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a derivados de folhas de pitangueira. **Revista Ciência Rural**. Santa Maria, v.38, n.7, p.1824-1829, out, 2008.

MAZARO, S. M.; WAGNER JÚNIOR, A.; SANTOS, I; CITADIN, I.; POSSENTI, J. C.; GOUVÊA, A. Controle do tombamento de plântulas de beterraba e tomate pelo tratamento de sementes com quitosana. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.44, n.11, p.1424-1430, nov. 2009.

MING, L.C. et al. Yield of essential oil of and citral content in different parts of lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf.) Poaceae. **Acta Horticulturae**, Leuven, n. 426, p. 555-559, 1996.

MISHRA, A. K.; DUBEY, N. K. Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. **Applied and Environmental Microbiology**. Washington, v. 60, p. 1101– 1105, 1994.

MONDELLO, F., BERNARDIS, F., GIROLAMO, A., SALVATORE, G., CASSONE A. - In vitro and in vivo activity of tea tree oil against azolesusceptible and resistant

human pathogenic yeasts; **Journal of Antimicrobial Chemotherapy** (2003) 51, 1223-1229.

MONDELLO, F., DE BERNARDIS, F., GIROLAMO, A., CASSONE A., SALVATORE, G.- In vivo activity of terpinen-4-ol, the main bioactive component of *Melaleuca alternifolia* Cheel (tea tree) oil against azole-susceptible and –resistant human pathogenic **Candida species BMC Infectious Diseases** 2006, 6:158 doi:10.1186/1471-2334-6-158.

MORAIS, L. A. S. *et al.* Efeito de óleos essenciais na germinação e sanidade de sementes de soja. In: **Congresso Brasileiro de Olericultura**, 48, 2008.

MORAIS, L. A. S. Óleos essenciais no controle fitossanitário. In: BETTIOL, Wagner; MORANDI, Marcelo Augusto Boechat. Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. Jaguariúna: **Embrapa Meio Ambiente**, Cap. 9, p. 139-152, 2009.

MONTEIRO, T. S. A. Controle alternativo de *Aphelenchoides besseyi* em sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. 45f. 2010. **Monografia (Curso de Agronomia)**. Universidade Estadual de Montes Claros. Janaúba – MG, 2010.

NAKAZAWA, A.; NOZUE, M.; YASUDA, H.; TAKEDA, G.; KUBO, H. Expression pattern and gene structure of phenylalanine ammonia-lyase in *Pharbitis nil*. **Journal of Plant Research**, v.114, p.323-328, 2001.

OLIVEIRA, M. I., *et. al.*, Crescimento e teor de óleo essencial de plantas jovens de *artemisia vulgaris* submetidas a diferentes condições de radiação. **Congresso de Ecologia do Brasil**. Caxambu -MG, 2007.

PANIZZA, S. **Plantas que curam**. São Paulo: IBRASA, 28 ed,, 1997 289p.

PARANAGAMA, P.A. *et al.* Fungicidal and anti-aflatoxigenic effects of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. (lemongrass) against *Aspergillus flavus* Link. isolated from stored rice lemon grass. **Letters in Applied Microbiology**, New York, v. 37, p. 86-90, 2003.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). Manual de Fitopatologia - Princípios e Conceitos. São Paulo: **Agronômica Ceres**, p. 417-454. 1995.

PEREIRA, R.B.; LUCAS, G.C.; ALVES, E.; PERINA, F.J., Resistência induzida pelo óleo essencial de capim-limão no controle da pinta preta do tomateiro. 45º Congresso Brasileiro de Fitopatologia. Copyright the Brazilian Phytopathological Society **Anais..** Agosto de 2012. Manaus – AM.

PETERSEN, J. *et al.* Weed suppression by release of isothiocyanates from turnip-rape mulch. **Agronomy Journal**, v.93, p.37-43, 2001.

PINTO, J. M. A.; SOUZA, E. A.; OLIVEIRA, D. F. use of plant extracts in the controle of common bean anthracnose. *Crop Protection*. **Guildford**, v.29, n.8, p. 838- 842, Aug. 2010.

PONCE, A .G. et al. Antmicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft-Technologie*, **London**, v.36, p. 679 – 684, 2003.

PORTE, A.; GODOY, R. L. O. Alecrim (*Rosmarinus Officinalis* L.): propriedades antimicrobiana e química do óleo essencial. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 19, n. 2, p. 193-210, jul./dez. 2001.

QUEIROGA, M. F. C. *et al.* Aplicação de óleo no controle de *Zabrotes subfasciatus* e na germinação de *Phaseolis vulgaris*. **Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient.**, Campina Grande, v. 16, n. 7, p.777-783, jul. 2012.

RAI, V. K.; GUPTA, S. C.; SINGH, B. Volatile monoterpenos from *Prinsepia utilis* L. leaves inhibit stomatal opening in *Vicia faba* L. **Biologia Plantarum**, v. 46, n. 1, p. 121-124, 2003.

REIGOSA, M. J., SANCHEZ-MOREIRAS A., GONZALES, L. Ecophysiological approach in allelopathy. **Critical Reviews in Plant Science**, v.18, n.5, p. 577-608, 1999.

ROLIM, P.R.R.; VECHIATO, M.; ROSSI, F.; TOFÖLI, J.G.; DOMINGUES, R.J. Tratamento de sementes de tomate com medicamentos homeopáticos (Tomato seed treatments with homoeopathic remedies). **Anais do 46º. Congresso Brasileiro de Olericultura**, 2006. CD-Rom.

ROMERO. L.R. Atividade do Óleo Essencial de Tomilho (*Thymus vulgaris* L.) Contra Fungos Fitopatogênicos. **Original Article**, UNOPAR, v.11, n.4, p.8-15, 2009.

SALGADO, A. P. S. P.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; SOUZA, J. P.; ABREU, C. M. P.; PINTO, J. E. B. P. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 2, p.249-254, 2003.

SA-NGUANPUAG, K. et al. Ginger (*Zingiber officinale*) oil as an antimicrobial agent for minimally processed produce: a case study in shredded green papaya. **International Journal of Agriculture & Biology**, v.13, n. 6, p.895-901, 2011.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças em plantas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 4, p. 554-556, Jul/Ago 2003.

SILVA. S. R. S., DEMUNER. A.J., BARBOSA. L.C.A, ANDRADE. N. J., NASCIMENTO. E. A., PINHEIRO. A. L. Análise dos Constituintes Químicos e da Atividade Antimicrobiana do Óleo Essencial de *Melaleuca alternifolia* chell. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botocatu, v, 6, n. 1, 63-70, 2003.



SIMÕES, C. M. O. & SPITZER, V. ÓLEOS ESSENCIAIS. IN: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis: Editora UFSC, 1999. cap. 8, p.397-425.

SIMÕES, C.M.O.; SHENKEL, E.P.; GOSMANN,G.; MELLO,J.C.P.;MENTZ, L.A; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Ed. Da UFRGS; Florianópolis: Ed. Da UFSC, 2000.821p.

SMITH, C. J. Accumulation of phytoalexins: defense mechanisms and stimulus response system. **The New Phytologist**. v. 132, p. 1-45. 1996.

SOUZA, L.T.; Reação de genótipos de tomateiro às raças 2 e 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. 2009. 48f. (**Dissertação de Pós Graduação em Fitopatologia**). Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, 2009.

SOUZA, Nadábia Almeida Borges de. Possíveis Mecanismos de Atividade Antifúngica de óleos Essenciais Contra Fungos Patógenos. 2010, 150f. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa –PB.

SOUZA, S.M.C. avaliação de óleos essenciais de condimentos sobre o desenvolvimento micelial de fungos associados a produtos de panificação. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 28, n. 3, p. 685-690, maio/jun., 2004.

STANGARLIN, J. R. Uso de extratos vegetais e óleos essenciais no controle de doenças de plantas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 40., 2007, Maringá. **Palestras...** Maringá: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2007. p. 94-95.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; TOLEDO, M. V.; PORTZ, R. L.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; PASCHOLATI, S. F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.10, n.1, p. 18-46, 2011.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Controle de doenças de plantas por extratos de origem vegetal. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.16, p.265-304, 2008.

STINTZI, A.; HEITZ, T.; PRASAD, V.; WIEDERMANNMERDINOGLU, S.; KAUFFMANN, S.; GEOFFROY, P.; LEGRAND, M.; FRITIG, B. Plant 'pathogenesis-related' proteins and their role in defense against pathogens. **Biochimie**, v.75, p.687-706, 1993.

TININIS, A.G.; ASSONUMA, M.M.; TELASCREA, M.; SILVA, M.R.S.R.M. Composição e variabilidade química de óleo essencial de *Cesearia sylvestris* SW. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.8, n.4, p. 132-136, 2006.

VENZON, M. et al. **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: EPAMIG, UFV, p.206, 2006.

WIRTH SJ & WOLF GA. 1992. Micro-plate colourimetric assay for endo-acting cellulose, xylanase, chitinase, 1,3- $\beta$ -glucanase and amylase extracted from forest soil horizons. **Soil Biol Biochem** 24: 511-519.

White SJ. Self-regulation of *Candida albicans* population size during GI colonization. *PLoS Pathog.* 2007;3(12):184.

VAN LOON, L.C. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. **European Journal of Plant Pathology**, v.103, p.753-765, 1997

VAN LOON, L.C.; VAN STRIEN, E.A. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.55, p.85-97, 1999.

VITTI, A. M. S; BRITO, J.O. **Óleo Essencial de Eucalyptus**. Piracicaba: ESALQ, 2003. 26p.

YADAV, S. et al. *Zingiber officinale* Rosc.: A Monographic Review Research & Reviews: **Journal of Botany** v.1, n.1, p.45-50, 2012

YOUSUFI, M.K. To Study Antiacterial Activity of *Allium Sativum*, *Zingiber officinale* and *Allium Cepa* by Kirby-Bauer Method. **IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences**. v.4, n.5, p.6-8, 2012.

ZOGHBI, M. G. B., ANDRADE, E. H. A., OLIVEIRA, J. et al. Yield and chemical composition of the essential oil of the stems and rhizomes of *Cyperus articulatus* L. cultivated in the state of Pará, Brazil. **Journal of Essential Oil Research.**, jan/fev, 2006.