

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS DOIS VIZINHOS
CURSO DE AGRONOMIA

LUIZ HENRIQUE NEVES DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIFÚNGICO DE DIFERENTES ÓLEOS
ESSENCIAIS SOBRE O FUNGO *Colletotrichum dematium* var. *truncata***

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOIS VIZINHOS
2021

LUIZ HENRIQUE NEVES DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIFÚNGICO DE DIFERENTES ÓLEOS
ESSENCIAIS SOBRE O FUNGO *Colletotrichum dematium* var. *truncata***

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso, do curso de Agronomia, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, como requisito parcial para obtenção do Título de Engenheiro Agrônomo.

Orientadora: Profa. Dra. Maristela Dos Santos Rey Borin

DOIS VIZINHOS

2021



TERMO DE APROVAÇÃO

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIFÚNGICO DE DIFERENTES ÓLEOS
ESSENCIAIS SOBRE O FUNGO *Colletotrichum dematium* var. *truncata*

Por

LUIZ HENRIQUE NEVES DOS SANTOS

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 04 de agosto de 2021 como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheiro Agrônomo. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Orientadora
Maristela dos Santos Rey Borin
UTFPR-DV

Membro da banca
Profa. Dra. Anelise Perboni
UTFPR-DV

Membro da banca
Profa. Dra. Adriana Di Domênico
UTFPR-DV

Profa. Dra. Angélica Signor Mendes
Professor responsável pelo TCC

Prof. Dr. Almir Antonio Gnoatto
Coordenador do Curso
UTFPR – Dois Vizinhos

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a meu pai Ataides, minha mãe Marly e meus irmãos Adilson, Ana, Daiane e José, que ajudaram na construção de meus valores, e não mediram esforços para me ajudar a vencer os obstáculos e alcançar meus objetivos. A professora Maristela Dos Santos Rey Borin pelos seus ensinamentos, paciência e confiança. Posso dizer que Deus colocou as pessoas certas no meu caminho e que a minha formação profissional e pessoal não teria sido a mesma sem essas pessoas.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradecer a Deus, por ter me guiado ao longo da minha trajetória, pela proteção e me dar coragem de chegar ao fim de esse ciclo.

Agradecer a meus pais Marly e Ataidés, e irmãos Adilson, Ana, Daiane e José por sempre terem me apoiado tanto emocionalmente como financeiramente isso fez com que nunca me faltou motivação para conquistar meu sonho.

Vocês são minha família e meu porto seguro. Obrigado por estarem comigo durante esse percurso, me ajudando a construir os alicerces de um novo futuro. Amo a todos vocês.

Reverencio a Profa. Dra. Maristela Dos Santos Rey Borin pela confiança em mim depositada, e pela dedicação de orientação deste trabalho, tenho muita admiração como orientadora e pessoa é fantástica. Obrigado!

Agradeço também a Profa. Dra. Adriana Di Domenico pelos ensinamentos nas atividades do laboratório e organização profissional.

Agradeço também a todos meus amigos que contribuíram de alguma forma em minha vida, em especial ao Allan, Luiz e João que sempre estavam ao meu lado em momentos bons e em momentos difíceis. A todos vocês eu sou muito grato. Obrigado!

RESUMO

DOS SANTOS, N. Luiz Henrique. AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIFÚNGICO DE DIFERENTES ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE O FUNGO *Colletotrichum dematium* var. *Truncata*. 27 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2021.

A soja (*Glycine max* L.) é umas das principais culturas produzida no Brasil, sendo de extrema importância para economia brasileira. Utilizada mundialmente para diversas finalidades, sendo a principal, o seu consumo por humano e animais. O fungo *C. dematium* var. *truncata* fungo causador da antracnose na soja, uma das principais doenças que acometem a cultura que ocorre desde a fase inicial até a formação das vagens e é transmitida via semente em condições ideais podem ocasionar perdas elevadas na produção. O experimento teve como objetivo analisar o efeito antifúngico de alguns óleos essenciais. As análises foram realizadas nos laboratórios de Fitopatologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Dois Vizinhos. De início realizou-se o teste de mínima concentração inibitória (MIC) para analisar o efeito inibitório inibição dos óleos essenciais Guaçatonga (*Casearia sylvestris*), Laranja doce (*Citrus aurantium dulcis*), Litsea (*Litsea cubeba*), Pitanga (*Eugenia uniflora*), Sândalo (*Santalum album* L.) o composto D-limoneno. E na sequência foi realizado o teste de concentração fungicida mínima (MFC). Com as análises podemos observar que todos os óleos essenciais obtiveram efeito antifúngico em alguma concentração, destaque para o óleo essencial de Pitanga (*Eugenia uniflora*) que apresentou resultados estatisticamente igual ao controle e apresentou efeito fungicida.

Palavras-chave: Antracnose, antracnose na soja, controles alternativos da antracnose.

ABSTRACT

DOS SANTOS, N. Luiz Henrique. EVALUATION OF THE ANTIFUNGAL EFFECT OF DIFFERENT ESSENTIAL OILS ON THE FUNGUS *Colletotrichum dematium* var. *truncate*. 27 f. Course Conclusion Work (Graduation in Agronomy) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2021.

Soybean (*Glycine max* L.) is one of the main crops produced in Brazil, being extremely important for the Brazilian economy. Used worldwide for various purposes, the main one being its consumption by humans and animals. The fungus *C. dematium* var. *truncata* fungus that causes anthracnose in soybean, one of the main diseases that affect the crop that occurs from the initial stage to the formation of pods and is transmitted via seed under ideal conditions and can cause high yield losses. The experiment aimed to analyze the antifungal effect of some essential oils. The analyzes were carried out in the Phytopathology laboratories of the Federal Technological University of Paraná, Dois Vizinhos campus. Initially, the minimum inhibitory concentration (MIC) test was performed to analyze the inhibitory effect of inhibition of the essential oils Guaçatonga (*Casearia sylvestris*), Sweet orange (*Citrus aurantium dulcis*), Litsea (*Litsea cubeba*), Pitanga (*Eugenia uniflora*), Sandalwood (*Santalum album* L.) the compound D-limonene. And then the minimum fungicidal concentration test (MFC) was performed. With the analysis we can observe that all essential oils obtained an antifungal effect at some concentration, especially the essential oil of Pitanga (*Eugenia uniflora*) which presented results statistically equal to the control and showed a fungicidal effect.

Keywords: biological control of anthracnose, anthracnose in soybean, alternative controls of anthracnose.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	10
2.	OBJETIVOS	12
2.1	OBJETIVOS GERAIS	12
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	12
3.	JUSTIFICATIVA	13
4.	REVISÃO DE LITERATURA	14
4.1	CULTURA DA SOJA.....	14
4.2	ANTRACNOSE DA SOJA.....	15
4.3	ÓLEOS ESSENCIAIS	15
4.3.1	<i>Casearia sylvestris</i>	16
4.3.2	<i>Citrus aurantium dulcis</i>	16
4.3.3	<i>Litsea cubeba</i>	16
4.3.4	<i>Eugenia uniflora</i>	16
4.3.5	<i>Santalum album L.</i>	16
5.	MATERIAL E MÉTODOS.....	17
5.1	LOCAL DO EXPERIMENTO.....	17
5.2	OBTENÇÃO DA SUSPENSÃO DE ESPOROS PARA FONTE DE INÓCULO.....	17
5.3	MÍNIMA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA (MIC).....	17
5.4	DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO FUNGICIDA MÍNIMA (MFC). 19	
5.5	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	20
6.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
7.	CONCLUSÕES	25
8.	REFERÊNCIAS.....	26

1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L.) é uma *commodity* muito expressiva e de alto valor comercial, a qual tem se destacado mundialmente por ser utilizada tanto para o consumo humano quanto de animais. A utilização para o consumo animal, pode ser fornecida através de variadas formas, sendo a principal, na forma de ração de alto potencial proteico, energético e digestibilidade (EMBRAPA, 2003).

Segundo a Conab (2021) Brasil destaca-se como o maior produtor mundial do grão, com safra recorde e uma produção de 135,5 milhões de toneladas na safra 2020/2021, e na exportação, o Brasil é o maior exportador mundial do grão, com cerca de e 85,6 milhões de toneladas, além de estocar uma parte da sua produção para consumo interno.

A soja é a cultura que ocupa a maior área de terras cultiváveis do país, sendo cultivada em todas as regiões. Seu cultivo aproxima-se de 38,5 milhões de hectares e a região centro-oeste é a maior produtora do grão no país, a sua produção é de 6.138,35 milhões de toneladas, aumento de 1,1% em relação à safra passada (CONAB, 2021).

Dentre diversos fatores que limitam a máxima produção do grão no país, a incidência de doenças causadas por fungos, bactérias, nematoides e vírus são as principais causas de perdas na lavoura (JUHÁSZ et al., 2013). A antracnose causada pelo fungo o *Colletotrichum dematium* var. *truncata*, mostra sérios danos na cultura da soja. Além de ser transmitido via sementes contaminadas e parte aérea da planta, este fungo pode sobreviver em restos de culturas (MANANDHAR, J. B., HARTMAN, 2008).

A antracnose ocorre em regiões com altas temperaturas e elevada precipitação como é o caso da região centro-oeste do Brasil. Os sintomas da doença são morte de plântulas, manchas nas folhas, necrose nas nervuras e pecíolos e, em períodos chuvosos, os danos desta doença podem até causar drásticas perdas da produção (GALLI et al., 2005).

Um das principais formas controle da doença é a escolha de sementes de qualidade, livres do patógeno e cultivadas em áreas sem histórico da doença. Outro ponto importante para o controle é o tratamento de sementes e uso de variedades resistente ao fungo (ADAMI et al., 2006).

Geralmente, o controle de patógenos é realizado com produtos químicos, pois existem tecnologias que facilitam a sua aplicação. Porém, existem algumas restrições

no uso destes produtos, devido a alguns patógenos apresentarem resistência. Sendo assim, tem se testado algumas formas alternativas para o controle, um exemplo é a utilização de óleos essenciais que tem expressado excelentes resultados (BASTOS & ALBUQUERQUE, 2004; CELOTO et al., 2011; MITCHELL et al., 2010).

Os óleos essenciais são extraídos de plantas, e a grande maioria que vem sendo testado têm apresentado alguma ação antimicrobiana, quando em contato com patógenos (VIEGAS et al., 2005; MAIA et al.2015).

Alguns testes com óleos essenciais apontam ação antifúngica quando testados *in vitro*, e tem apresentado excelentes resultados (HILLEN et al., 2012).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

- Avaliar o efeito antifúngico dos óleos essenciais de Guaçatonga (*Casearia sylvestris*), Laranja doce (*Citrus aurantium dulcis*), Litsea (*Litsea cubeba*), Pitanga (*Eugenia uniflora*) e o D-limoneno em comparação com um fungicida comercial sobre o fungo causador da antracnose na soja *Colletotrichum dematium* var. *truncata*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a concentração mínima inibitória (MIC), através do método de microdiluição em microplacas.
- Determinar o efeito fungicida e fungitóxico dos óleos essenciais testados.
- Contribuir com o estudo de formas alternativas, como óleos essenciais, para o controle de antracnose na cultura da soja.

3. JUSTIFICATIVA

O uso indiscriminado de defensivos fitossanitários tem causado sérios problemas tanto para o meio ambiente, como também contaminação de pessoas que residem em áreas próximas a plantações.

Para produtores de orgânicos torna-se inviável a utilização de químicos para controle de patógenos, como é o caso do *Colletotrichum dematium* var. *truncata*. A utilização de antifúngicos a base de óleos essenciais, pode ser uma opção para estes fins, sendo que alguns trabalhos têm comprovado a eficácia no controle de fungos altamente prejudiciais para cultura de interesse.

Mesmo assim essa área do controle biológico, ainda é carente de estudos e pesquisas, que busquem uma melhoria em formas de aplicação e identificação de moléculas destes óleos essenciais. Este trabalho de conclusão de curso almeja em contribuir estudando as mínimas concentrações inibitória e os efeitos sobre o fungo *C. dematium* var. *truncata* que é o causador da antracnose, se tornando uma opção futura para o controle de patógenos que causam danos as culturas comerciais.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 CULTURA DA SOJA

A cultura da soja é de extrema importância para a economia e o agronegócio brasileiro, com aumento constante na produção e área cultivada, o que tornou o Brasil o maior produtor e exportador do grão no mundo superando o Estados Unidos. Em 2021 a área de cultivo de soja no Brasil é de 38,5 mil hectares com produtividade de 3.523 kg por hectares (CONAB, 2021).

O aumento na área cultivada e da produtividade teve a contribuição de tecnologias como as cultivares com resistências e tolerâncias aos patógenos e pragas, juntamente com a introdução de equipamentos que facilitaram a mecanização de grandes áreas e seu manejo adequado. A pesquisa científica foi fundamental para o desenvolvimento de manejos eficientes e no desenvolvimento de cultivares mais adaptáveis a diferentes áreas. Outro ponto fundamental foi o aumento de profissionais capacitados elevando a produtividade das lavouras e realizando o uso de agroquímicos com mais eficiência (SILVA, 2010).

Com aumento da área plantada e intensificação na produção, a incidência de pragas como fungos, bactérias, nematoides e vírus aumentou.

De acordo com Pastorello, (2014), as doenças causadas por fungos são as mais agressivas e mais frequentes e as perdas podem ser totais, o manejo da área adotado, podem reduzir o desenvolvimento do patógeno e conseqüentemente minimizar os danos.

Sementes de alta qualidade juntamente com condições ideais para o desenvolvimento são os principais fatores para se obter melhores rendimentos e conseqüentemente altas produtividades (BRACCINI et al., 2003).

Segundo Henning (1996), a maioria das doenças da soja tem a semente como veículo e fonte de transmissão de inoculo, que quando encontra condições ideais tem potencial de causar elevadas perdas de produção e conseqüentemente prejuízos econômicos.

4.2 ANTRACNOSE DA SOJA

A antracnose da soja causada pelo fungo *Colletotrichum dematium* var. *truncata* tem potencial de causar danos e perdas significativas em diversas culturas sendo a soja de maior importância comercial. Os principais danos são na fase inicial de formação de vagens resultando na diminuição do número de vagens e, conseqüentemente, em drástica queda de produção em anos de alta pluviosidade (GODOY et al., 2014).

De acordo com Henning et al. (2014), os fatores que potencializam a ocorrência do fungo juntamente com seus danos são a densidade elevada da cultura, alta umidade relativa, temperaturas de 18 a 25°C, elevada pluviosidade e molhamento foliar.

Os sintomas nas fases iniciais são a morte de plântulas, manchas necróticas nas nervuras de folhas, hastes e vagens, podendo ocasionar deterioração dos grãos e até mesmo queda total das vagens (GODOY et al., 2014).

A doença provoca lesões em qualquer fase do desenvolvimento da cultura que geralmente são pontuações escuras e manchas necróticas com frutificações denominadas acérvulos. A disseminação da antracnose tem vários meios sendo a principal via a semente, mas pode ser disseminado também via chuva e vento e sobrevive em restos culturais (MANANDHAR; HARTMAN, 2008).

O principal atributo utilizado para identificação do fungo nas sementes são as estruturas de frutificação dos fungos. Como forma de controle se recomenda a utilização de sementes saudáveis, estande de plantas e espaçamento de fileiras adequados, fertilidade do solo adequada, rotação de culturas e o tratamento de sementes (GODOY et al., 2014).

4.3 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais são metabólitos secundários produzidos pelas plantas e podem ser extraídos de inúmeras partes como caule, folha, raiz e, até mesmo, sementes. Eles possuem diferentes funções dependendo das espécies, podendo garantir uma proteção extra para planta contra predadores, além de vantagens adaptativas e evolutivas (OUSSALAH et al., 2007). Pesquisas tem buscado avaliar o efeito dos óleos essenciais na ação antifúngica e a inibição do crescimento de microrganismos (HILLEN et al., 2012; VENTUROSO et al., 2011).

4.3.1 *Casearia sylvestris*

Conhecida popularmente como guaçatonga ou erva de bugre, pertence à família Flacourtiaceae e gênero *Casearia*. Possui propriedades fitoterápicas e vem sendo bastante estudada por suas propriedades antimicrobianas (BENTO, 2013).

4.3.2 *Citrus aurantium dulcis*

Popularmente conhecida como laranja doce, pertence à família Rutaceae. Possui propriedades antifúngicas e fitoterápicas, quando utilizada em chás ou aromatizantes (VELÁZQUEZ-NUÑEZ et al., 2013).

4.3.3 *Litsea cubeba*

Conhecida como o nome comum de Litsea, é pertencente à família Lauraceae e utilizada na indústria farmacêutica. Têm mostrado eficiência no efeito antifúngico e antimicrobiano (TREMÉA, 2015)

4.3.4 *Eugenia uniflora*

A pitanga pertence à família Myrtaceae e é uma planta bastante utilizada para fins medicinais, farmacêuticos. Além disso, tem mostrado eficácia na ação antimicrobiana (CASSINELLI et al., 2019).

4.3.5 *Santalum album* L.

Também conhecido como sândalo, pertence à família Santalaceae, e é bastante utilizado nas indústrias de cosméticos devido seu aroma agradável. Possui propriedades que atuam na inibição do crescimento de diversos microrganismos (Sindhu et al., 2010).

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 LOCAL DO EXPERIMENTO

O experimento foi realizado no laboratório de Fitopatologia e no laboratório de Análises de Sementes da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos. Os óleos essenciais foram obtidos em farmácias da cidade e as sementes obtidas de um produtor da região.

5.2 OBTENÇÃO DA SUSPENSÃO DE ESPOROS PARA FONTE DE INÓCULO

Para obtenção do inóculo fúngico para os testes da atividade antifúngica, o fungo *Colletotrichum dematium* var. *truncata* foram cultivados em placas de petri em meio BDA (Batata Dextrose e Ágar), incubadas a 25°C por 7 dias. Em seguida, foi adicionado 1 mL de água destilada e, com a utilização de uma alça, foi feita a raspagem da superfície da cultura. O líquido contendo os esporos foi retirado e filtrado com a utilização de gaze esterilizada para filtrar as hifas do fungo, assim se obtém uma suspensão de esporos.

5.3 MÍNIMA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA (MIC)

A determinação da concentração mínima inibitória, foi testada através do método de microdiluição em microplacas de 96 poços, dispostos em 12 colunas (1 a 12) e 8 linhas (A a H), onde foram depositados 100 µL do caldo BD (Batata e Dextrose) em todos os poços ou compartimentos da microplaca, menos na linha D. Na primeira coluna (1) da microplaca foram adicionados 200 µL de óleo essencial, partindo da concentração 200 µl. mL⁻¹ no poço (1) da placa, em seguida o conteúdo do poço foi homogeneizado com o meio BD e 100 µL foi transferido para o poço da próxima coluna, repetindo-se o procedimento até a última coluna no poço (12), chegando-se na concentração 0,09 µl. mL⁻¹ e os 100 µL finais foram descartados, na sequência adicionou-se 100 µL da suspensão dos microrganismos (1,5 × 10⁷ UFC/mL). Os tratamentos foram os seguintes: D-limoneno, Guaçatonga (*Casearia sylvestris*), Laranja doce (*Citrus aurantium dulcis*), Litsea (*Litsea cubeba*), Pitanga (*Eugenia uniflora*), Sândalo (*Santalum album* L.) Standak top® dose da bula, Standak top®

dose dobrada. Em seguida as placas foram incubadas na câmara BOD a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, e após 48 horas feita a avaliação das microplacas onde foi verificada com a utilização de uma lupa estereoscópica a presença de micélios microbianos ou turvação do meio após a incubação.

Figura 1. Microplaca de 96 poços ou compartimentos para análise da MIC (mínima concentração inibitória) frente ao fungo *Colletotrichum dematium* var. *truncata* com diferentes tratamentos.



TABELA 1. Diluições sequenciais dos óleos essenciais (OE) expressas em porcentagem para a avaliação antimicrobiana pela técnica da microdiluição.

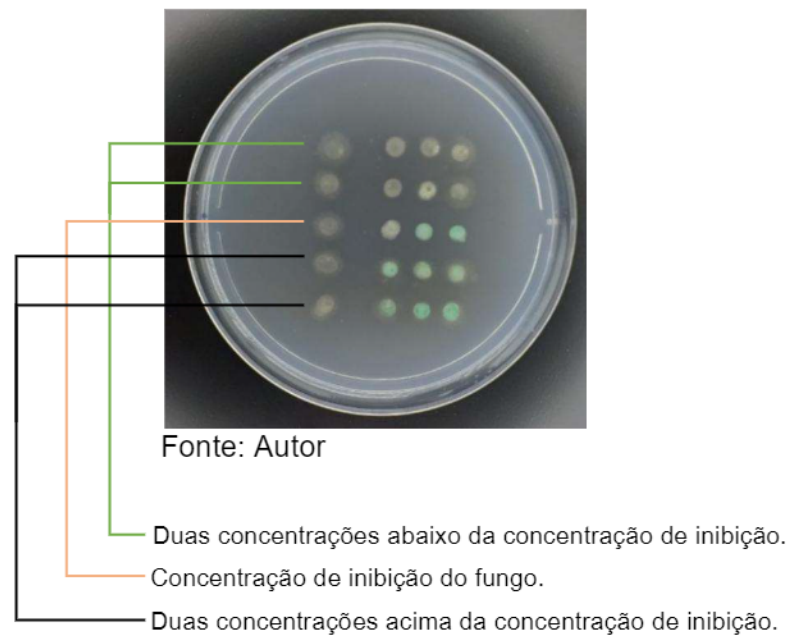
Poços	Concentrações de OE ($\mu\text{L mL}^{-1}$)
1	200
2	100
3	50
4	25
5	12,5
6	6,25
7	3,12
8	1,56
9	0,78
10	0,39
11	0,19
12	0,09

Fonte: Autor

5.4 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO FUNGICIDA MÍNIMA (MFC)

Avaliou-se os óleos essenciais e o fungicida comercial através do plaqueamento de 10 μL das soluções contidas nos poços da microplaca após a leitura da MIC utilizou-se cinco poços do MIC, sendo 2 abaixo da concentração que inibiu o crescimento, e os dois subsequentes. Em seguida, as placas foram incubadas na BOD a 25°C por 24 horas, e avaliadas quanto o crescimento fúngico. Os ensaios foram feitos em triplicata.

Figura 2. Placa de petri com o teste da MFC (concentração fungicida mínima) dos diferentes tratamentos no controle do fungo *Colletotrichum dematium* var. *truncata*.



5.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados foram submetidos à análise de normalidade pelo teste Shapiro – Wilk e, como foram normais foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($P < 0,05$). Dados da avaliação da mínima concentração inibitória (MIC) foram submetidos ao teste de Tukey ($P < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas com a utilização do programa Action Stat.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os efeitos inibitórios dos tratamentos compostos por óleos essenciais e o controle sobre o *C. dematium* var. *truncata* avaliado e definido pela mínima concentração inibitória (MIC), concentrações expressas em $\mu\text{l.mL}^{-1}$ apresentados na Tabela 2.

TABELA 2. Efeitos inibitórios dos tratamentos sobre o fungo *Colletotrichum dematium* var. *truncata* em concentrações de óleos essenciais o controle em $\mu\text{l.mL}^{-1}$.

TRATAMENTOS	Concentração de inibição em OE ($\mu\text{l. mL}^{-1}$)
Guaçatonga	200 d
D-limoneno	200 d
laranja doce	50 c
Sândalo	25 b
Litsea	25 b
Pitanga	12,5 a
Standak® Top puro	12,5 a
Standak® Top dose (controle)	3,12 a

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A mínima concentração inibitória (MIC) é utilizada por muitas pesquisas para testar o desempenho de óleos essenciais na ação antimicrobiana (BURT, 2004). A análise MIC expressa a menor concentração necessária para inibir o crescimento de determinado microrganismo, através de um teste semiquantitativo (LAMBERT e PEARSON, 2000).

Os resultados obtidos no presente trabalho, o óleo essencial de Guaçatonga (*C. sylvestris*) e o composto D-limoneno foram os tratamentos que apresentaram o menor efeito inibitório, pois precisaram de $200 \mu\text{l.mL}^{-1}$ para afetar o crescimento micelial do fungo *C. dematium* var. *truncata*, em comparação com o controle que necessitou de $3,12 \mu\text{l.mL}^{-1}$ para inibir completamente o crescimento do fungo. Já, o óleo essencial de laranja doce (*C. aurantium dulcis*) apresentou resultados mais expressivos onde necessitou de $50 \mu\text{l.mL}^{-1}$ de OE para inibir completamente o crescimento micelial do fungo *C. dematium* var. *truncata*, além disso o efeito inibitório é maior comparado ao de Guaçatonga e o composto D-limoneno.

Para o OE de Sândalo (*S. album* L.) e Litsea (*L. cubeba*) precisou de $25 \mu\text{l.mL}^{-1}$ do OE, concentração relativamente baixa comparada aos demais OEs citados anteriormente, isso significa que o efeito fungicida é superior, pois necessita de uma

concentração menor de OE para inibir por completo o fungo *C. dematium* var. *truncata*.

O OE de pitanga (*E. uniflora*) na concentração de 12,5 $\mu\text{l.ml}^{-1}$ inibiu completamente o crescimento micelial do fungo *C. dematium* var. *truncata*, resultado que não diferiu estatisticamente do controle químico o Standak® Top na dose recomendada, o que demonstra que o OE de pitanga foi o que apresentou maior efeito inibitório em comparação aos demais.

De maneira geral, plantas aromáticas e medicinais são capazes de apresentar compostos que podem desempenhar importantes funções na planta-patógeno, sendo ações fungitóxicas, fungistáticas ou bactericidas (PINTO; SOUZA; OLIVEIRA, 2010; LUCAS, 2009). A produção de compostos chamados de fitoalexinas, são decorrentes do acúmulo de proteínas da patogênese (PRP) e síntese de compostos estruturais e bioquímicos referente a defesa da planta BALPI-PEÑA et al., 2006; LUCAS et al., 2012; SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN; CRUZ, 2003).

Hilmann (2015) testou os efeitos voláteis dos óleos essenciais no tratamento de sementes, obteve como resultado que óleo essencial de Guaçatonga (*C. sylvestris*) possuiu aumento expressivo na atividade da enzima $\beta - 1,3$ glucanase, enzima que atua na inibição de patógenos. Já, o composto D-limoneno largamente encontrado e isolado em espécies do gênero *citrus*, possui atividade antimicrobiana ocasionada pela perda de função da membrana do patógeno, devido a característica lipofílica que atua de forma tóxica desordenando proteínas e aumentando sua fluidez e permeabilidade (VALERIANO et al., 2012).

Hilmann (2015) observou que o óleo essencial de laranja (*C. aurantium dulcis*) obteve efeito inibitório na germinação dos esporos do fungo *Sphaceloma ampelinum* causador da antracnose na uva, com concentrações de 0,3 e 1,0%.

Yang et al. (2010) evidencia que o óleo essencial de Litsea (*Litsea cubeba*) possui atividade fungicida, que inibiu 50% do crescimento micelial dos fungos *Thanatephorus cucumeris* e *Sclerotinia sclerotiorum* com doses de 116 e 152 $\mu\text{l.ml}^{-1}$ respectivamente. Segundo Wang & Liu (2010) o principal constituinte do óleo essencial de Litsea (*Litsea cubeba*) é o citral que constitui de 68,3% e 63,7% dos componentes, fazendo com que o efeito fungicida seja eficiente.

Garcia (2018) testou o óleo essencial de pitanga (*E. uniflora*) e obteve excelentes resultados onde na concentração de 54 $\mu\text{l.ml}^{-1}$ inibiu completamente os microrganismos testados.

Bastos e Albuquerque (2004) testaram o óleo essencial de *Piper aduncum*, e obtiveram como resultado de inibição doses a partir 100 µl.ml⁻¹, e com efeito inibitório de 100 % sobre a germinação dos conídios do *Colletotrichum musae*.

Corroborando com estes dados, Pereira (2001) em seu trabalho relata que conforme aumento do efeito inibidor da esporulação a eficiência dos tratamentos é melhor, pois com a redução da esporulação diminui o potencial de inóculo.

Com os resultados do presente trabalho temos indícios da eficiência dos óleos essenciais na inibição dos patógenos que causam danos nas plantas.

TABELA 2. Avaliação da concentração fungicida mínima (MFC) e avaliação quanto a ação fungicida e fungistática dos tratamentos, sobre o fungo *C. dematium* var. *truncata*, comparado com um fungicida comercial.

TRATAMENTOS	EFEITO
Guaçatonga	Fungistático
D-limoneno	Fungicida
Laranja doce	Fungistático
Sândalo	Fungicida
Litsea	Fungicida
Pitanga	Fungicida
Standak® Top puro	Fungicida
Standak® Top dose	Fungicida

Fonte: Autor

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho, observamos que o óleo essencial de pitanga (*E. uniflora*), litsea (*L. cubeba*), sândalo (*S. album* L.) e o composto D-limoneno apresentaram propriedades fungicidas, onde na análise MIC cessaram o crescimento do fungo e quando, transferido para condições ideais de desenvolvimento na análise do MFC, não ocorreu o crescimento micelial do fungo, comprovando assim a eficácia dos tratamentos. Esse resultado foi semelhante ao controle químico Standak® Top, que inibiu completamente o desenvolvimento do fungo.

O óleo essencial de laranja doce (*C. aurantium dulcis*) e Guaçatonga (*C. sylvestris*) apresentaram efeito fungistático, pois no MIC cessou o crescimento micelial do fungo e em condições ideais, no teste MFC, ele retomou o crescimento micelial.

Intensas pesquisas têm evidenciado que produtos oriundos de vegetais como os óleos essenciais têm propriedades fungistática, fungicidas e bactericidas (SHARMA

e TRIPATHI, 2006; SOUSA et al., 2007). O efeito fungistático faz com que ocorra a interrupção do metabolismo do fungo quando em contato com o meio, mas não o mata. Na sequência, se encontrar as condições ideais, ele volta a crescer. Já, o efeito fungicida elimina o patógeno. A diferença pode ser reflexo da dosagem utilizada, do sítio de ação do tratamento e do fungo testado (HILMANN, 2015).

A morte do fungo pelo efeito fungicida pode ocorrer pelo extravasamento do conteúdo celular ou desenvolvimento de compostos tóxicos ocorrido pela degradação da parede celular (HILMANN, 2015). Stangarlin et al. (1999), através de estudos de cromatografia, observou propriedades fungicidas em óleos essenciais providos de plantas medicinais, que inibiram completamente o desenvolvimento de *Colletotrichum* spp.

Oliveira (2017) descreveu que o óleo essencial de pitanga (*E. uniflora*) inibiu o crescimento fúngico do microrganismo testado. Resultado semelhante a Combrinck et al. (2011) que em seu trabalho observou que alguns óleos essenciais apresentaram efeito fungitóxico sobre uma espécie de *Colletotrichum* spp.. Tagami et al. (2009) avaliou concentrações diferentes de extrato de erva-cidreira e ressaltaram a inibição de 97% do crescimento micelial do *Colletotrichum graminicola*.

Bastos e Albuquerque (2004) testaram o óleo essencial de *Piper aduncum*, e obtiveram como resultado efeito inibitório de 100 % da germinação dos conídios do *Colletotrichum musae*. com dosagens superiores a 100 $\mu\text{l.ml}^{-1}$

Hilman (2015) comprova em seu trabalho que os óleos essenciais de Guaçatonga (*C. sylvestris*) e laranja (*C. aurantium*) apresentaram efeito fungistático, onde suprimiu o crescimento micelial do fungo testado, e o efeito fungistático ocasionou danos no tecido celular, resultando no menor desenvolvimento e crescimento micelial do fungo.

Todos os óleos essenciais apresentarem efeito inibitório e cessaram o crescimento micelial do fungo *C. dematium* var. *truncata* e alguns apresentaram efeito fungicida que matou completamente o fungo, como é o caso do óleo essencial de pitanga (*E. uniflora*), litsea (*L. cubeba*), sândalo (*S. album* L.) e o composto D-limoneno.

Com esses resultados temos indícios de um possível controle alternativo para o fungo *C. dematium* var. *truncata* causador da antracnose na soja, mas são necessárias mais análises para se comprovar uma possível alternativa aos fungicidas comerciais.

7. CONCLUSÕES

O melhor tratamento foi o óleo essencial de pitanga (*E. uniflora*) que precisou de 12,5 $\mu\text{l. mL}^{-1}$ para inibir o crescimento e desenvolvimento do fungo *C. dematium* var. *truncata* e estatisticamente foi igual ao controle químico o Standak® Top. E apresentou efeito fungicida onde inibiu completamente o desenvolvimento do fungo *C. dematium* var. *truncata*.

De maneira geral todos os óleos essenciais apresentam excelente atividade antifúngica e podem ser uma alternativa no controle da antracnose da soja ocasionada pelo fungo *Colletotrichum dematium* var. *truncata*.

8. REFERÊNCIAS

ADAMI, P. et al. Eficiência de fungicidas no controle da antracnose (*Colletotrichum truncatum* var. *truncata*) da soja (*Glycine max*). Sinergismus scyentifica UTFPR, Pato Branco, v. 1, p. 22-28, 2006.

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.

BASTOS, C. N., ALBUQUERQUE, P. S. B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotricum musae* em banana. Fitopatologia Brasileira, v. 29, n. 5, p. 555- 557, 2004.

BENTO, T. S., Atividade antifúngica de extrato de *Casearia sylvestris* swartz e *Casearia decandra* jacq e seus efeitos sobre o metabolismo enzimático de três espécie de basidiomicetos deterioradores de madeira/ Thiara Siqueira Bento-São Paulo, 2013. 121 p, il.

BRACCINI, A. L.; REIS, S.; SEDIYAMA, C. S.; SEDIYAMA, T. Avaliacao da qualidade fisiologica e sanitaria da semente de genotipo de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) com diferentes graus de impermeabilidade do tegumento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasilia, v.16, n.2, p.195-200, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Brasília: MAPA/ACS. p.27-30, 2009.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods -a review. International Journal of Food Microbiology, v.94, n.3, p. 223-53, 2004.

CASSINELLI, A. B., MACIEL, F. L., FRONZA, J., & SCHWANBACH, J. (2019). Atividade antifúngica in vitro dos óleos essenciais *Eugenia uniflora* e *Psidium cattleianum* contra o fitopatógeno *Thielaviopsis basicola*. Revista Eletrônica Científica Da UERGS, 5(3), 250-256.

CELOTO, M. I. B.; PAPA, M. F. S.; SACRAMENTO, L. V. S.; CELOTO, F. J. Atividade antifúngica de extratos de *Momordica charantia* L. sobre *Colletotrichum musae*. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu, v. 13, n. 3, p. 337-341, 2011.

COMBRINCK, S.; REGNIER, T.; KAMATOU, G.P.P. In vitro activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. Industrial Crops and Products, v. 33, p. 344-349, 2011.

CONAB. Acompanhamento da safra brasileira de grãos. Site Conab, 20 abril 2021. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/graos/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em: 20 abril 2021.

EMBRAPA. Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. Tecnologias de produção de soja. Londrina, 2003. 195p.

GALLI, J. A. et al. Efeito de *Colletotrichum truncatum* var. *truncata* e *Cercospora kikuchii* na germinação de sementes de soja. Revista Brasileira de Sementes, v. 27, n. 2. p. 182-189, 2005.

GARCIA, M. O. Atividade antimicrobiana de extratos e óleos essenciais de araçá (*Psidium cattleianum* S.) e pitanga (*Eugenia uniflora* L.) sobre patógenos de origem alimentar. Dissertação 92f.: il. 2018.

GODOY, C.V. Doenças da soja. SOCIEDADE BRASILEIRA DE FITOPATOOGIA (SBF), 2014, versão Eletrônica Acesso em <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/125697/1/DoencasdaSoja.pdf> >. acesso em: 23/09/2020.

HENNING, A. A.; FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; LORINI, I. Importância do tratamento de sementes de soja com fungicidas na safra 2010/2011, Londrina: Embrapa Soja, 2010. 8 p. (Circular técnica, 82).

HENNING, A. A. Patologia de sementes. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1996. 43p.

HILLEN, T. 1; et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle de alguns fitopatógenos fúngicos in vitro e no tratamento de sementes. Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.14, n.3, p.439-445, 2012.

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

JUHÁSZ, Ana Cristina Pinto et al. Desafios fitossanitários para a produção de soja: Defesa vegetal e sustentabilidade do agronegócio. Belo Horizonte: Informe Agropecuário, 2013. 34 v.

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.

MAIA, T. F.; DONATO, A. D.; FRAGA, M. E.; ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE OLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.17, n.1, p.105-116, 2015.

MANANDHAR, J. B.; HARTMAN, G. L. Anthracnose. In: HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B.; RUPE, J. C. (Ed.) Compendium of soybean diseases. 4 ed., Minnesota: APS, p. 13-14, 2008.

MINUZZI, A. et al. Qualidade de sementes de quatro cultivares de soja, colhidas em dois locais no Estado do Mato Grosso do Sul. Embrapa Agropecuária Oeste-Nota Técnica/Nota Científica (ALICE), 2010.

MITCHEL, T. C.; STAMFORD, T. L. M.; SOUZA, E. L.; LIMA, E. O.; CARMO, E. S.; Efetividade do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L., Lamiaceae) como inibidor do crescimento de espécies de *Aspergillus* potencialmente toxigênicas. Ciênc. Technol. Aliment., Campinas, 30(3): 755-760, jul.-set. 2010.

OLIVEIRA, I. M. R. controle de *Alternaria solani* em tomateiro com óleo essencial de pitangueira. Laranjeiras do sul, 44 f. 2017.

OUSSALAH, M. et al. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Food Control, v. 18, n. 5, p. 414-420, 2007.

PARISI, J. J. D.; Medina, P. F. Tratamento de Sementes. Instituto Agronômico de Campinas – IAC, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Fitossanidade, 2014. Disponível em: http://www.iac.sp.gov.br/imagem_informacoestecnologicas/81.pdf. Acesso em: 15 de maio de 2019.

PEREIRA, M.C. Efeito da adição de condimentos no controle de microrganismos, na conservação de produtos de panificação e na inibição de metabólitos produzidos por fungos associados ao café. 2001. 104p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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.

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.

SHARMA, N.; TRIPATHI, A. Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem. Microbiology Research, v.163, n.3, p.337-344, 2008.

SINDHU, R. K., et al. (2010). Santalum album Linn: a review on morphology, phytochemistry and pharmacological aspects. International Journal of PharmTech Research, 2, pp.914-919. [Em linha]. Disponível em [consultado em 02-03-2021].

SOUZA, A. C. et al. Efectiveness of *Origanum vulgare* L. essencial oil to innibit the growth of food spoiling yeasts. Food Control, v.18, p.409-413, 2007.

STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S.; NOZAKI, M.H. Plantas Mediciniais e Controle Alternativo de Fitopatógenos. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento, Brasília, v.2, n.11, p.16-21, nov. 1999.

TAGAMI, O. K.; GASPARIN, M. D.; SCHWAN-ESTRADA, K, R, F.; SILVA CRUZ, M. E.; ITAKO, A. T.; TOLENTINO JÚNIOR, J. B.; MORAES, L. M.; STANGARLIN, J. R. Fungitoxidade de *Bidens pilosa*, *Thymus vulgaris*, *Lippia alba* e *Rosmarinus officinalis* no desenvolvimento in vitro de fungos fitopatogênicos. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 30, n. 2, p. 285-294, 2009.

TREMÉA, C. M. Atividade dos óleos essenciais de *Litsea cubeba* e *Cymbopogon martini* sobre isolados do complexo *Cryptococcus neoformans*. 2015. 97 f.

Dissertação (Mestrado em Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.

VALERIANO, C.; PICCOLI, R.H.; CARDOSO, M.G.; et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 14, n. 1, p. 57-67, 2012.

VELÁZQUEZ-NUÑEZ, M. J.; ÁVILA-SOSA, R.; PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A. Antifungal activity of orange (*Citrus sinensis* var. Valencia) peel essential oil applied by direct addition or vapor contact. *Food Control*, v.31, n.1, p.1-4, 2013.

VENTUROSOSO, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; CONUS, L. A.; PONTIM B. M. A.; BERGAMIN, A. C.; Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. *Summa Phytopathologica*, v.37, n.1, p.18-23, 2011.

VIEGAS, E.C.; SOARES, A.; CARMO, M.G.F.; ROSSETTO, C.A.V. Toxicidade de óleos essenciais de alho e casca de canela contra fungos do grupo *Aspergillus flavus*. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.23, n.4, p.915-919, out-dez 2005.

ZACARONI, L.M.; CARDOSO, M.G.; SOUZA, P.E.; GUIMARÃES, L.G; SALGADO, A.P.S. Potencial fungitóxico do óleo essencial de *Piper hispidinervum* (pimenta longa) sobre os fungos fitopatogênicos *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gloeosporioides*. *Acta amazônica*, vol., 39(1) p.,193 – 198, 2009.