

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CAMPUS DE CURITIBANOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
CURSO DE AGRONOMIA

Roger Vinicius Konkel

**Influência de óleos essenciais na germinação dos escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*  
(Lib.) de Bary e *Sclerotium rolfsii* Sacc.**

Curitibanos

2021

Roger Vinicius Konkel

**Influência de óleos essenciais na germinação dos escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*  
(Lib.) de Bary e *Sclerotium rolfsii* Sacc.**

Trabalho Conclusão do Curso de Graduação em  
Agronomia do Centro de Ciências Rurais, da  
Universidade Federal de Santa Catarina como requisito  
para a obtenção do título de Bacharel em Agronomia.  
Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Adriana Terumi Itako

Curitiba

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

konkel, Roger Vinicius

Influência de óleos essenciais na germinação dos  
escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary e  
*Sclerotium rolfsii* Sacc. / Roger Vinicius konkel ;  
orientador, Adriana Terumi Itako, 2021.

51 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -  
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus  
Curitibanos, Graduação em Agronomia, Curitibanos, 2021.

Inclui referências.

1. Agronomia. 2. Plantas medicinais. 3. Controle  
Alternativo. 4. Mofo branco. 5. Podridão da raiz. I.  
Itako, Adriana Terumi . II. Universidade Federal de Santa  
Catarina. Graduação em Agronomia. III. Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**  
**Coordenação do Curso de Graduação em Agronomia**  
Rodovia Ulysses Gaboardi km3  
CP: 101 CEP: 89520-000 - Curitibanos - SC  
TELEFONE (048) 3721-2176 E-mail: agronomia.cbs@contato.ufsc.br.

---

ROGER VINICIUS KONKEL

**Influência de óleos essenciais na germinação dos escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary e *Sclerotium rolfsii* Sacc.**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de Engenheiro Agrônomo, e aprovado em sua forma final pelo Curso de Graduação em Agronomia.

Curitibanos, 03 de setembro de 2021.



Documento assinado digitalmente  
Samuel Luiz Fioreze  
Data: 15/09/2021 14:01:47-0300  
CPF: 052.258.059-90  
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

---

Prof. Dr. Samuel Luiz Fioreze  
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:



Documento assinado digitalmente  
Adriana Terumi Itako  
Data: 15/09/2021 13:43:42-0300  
CPF: 044.130.099-59  
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

---

Profa. Dra. Adriana Terumi Itako  
Orientadora  
Universidade Federal de Santa Catarina



Documento assinado digitalmente  
Elis Borcioni  
Data: 15/09/2021 15:54:15-0300  
CPF: 970.176.390-49  
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

---

Profa. Dra. Elis Borcioni  
Membro da banca examinadora  
Universidade Federal de Santa Catarina



Documento assinado digitalmente  
Lírio Luiz Dal Vesco  
Data: 15/09/2021 14:32:43-0300  
CPF: 430.824.919-87  
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

---

Prof. Dr. Lírio Luiz Dal Vesco  
Membro da banca examinadora  
Universidade Federal de Santa Catarina

## **AGRADECIMENTOS**

Meus sinceros agradecimentos,

À Deus pelo dom da vida.

À minha falecida mãe, meu pai, tios e avós pela ajuda, apoio e exemplo.

À minha companheira Ana Caroline Krug por estar sempre ao meu lado.

À minha orientadora, Prof<sup>ª</sup>. Dr. Adriana Terumi Itako, pela oportunidade de realizar trabalhos de pesquisa, pelo auxílio, e conhecimento compartilhado.

Aos meu amigos, Antonio Américo Prates, Ana Paula Kroll, Felipe Weber Ferrarez, Talia Marafon, Willian Macanan, Yuri Pscheidt e aos demais.

Ao Prof. Dr. Cristian Soldi pela contribuição e pelo conhecimento compartilhado.

Ao Prof. Dr. João Batista Tolentino Júnior pelo auxílio na análise do trabalho.

À todos os técnicos de laboratório pela qualidade e agilidade na prestação dos serviços solicitados.

Ao grupo de Pesquisa em Fitopatologia da UFSC Campus de Curitibanos por todo auxílio nos experimentos.



## RESUMO

*Sclerotinia sclerotiorum* é um fungo pertencente ao filo Ascomycota, causador do mofo branco, tem capacidade de infectar mais de 500 plantas em todas as regiões produtoras do mundo. O fungo *Sclerotium rolfii* pertencente ao filo Basidiomycota, causa podridão da raiz e do colo, murcha e tombamento de plântulas, atacando diversas famílias botânicas. Ambos os fungos produzem os escleródios, estruturas de resistência do fungo. Os escleródios são de difícil controle e podem permanecer no solo por até dez anos, germinando quando ocorrerem condições favoráveis. As substâncias produzidas por algumas plantas atuam como agentes fungistáticos ou fungicidas e vêm sendo uma alternativa segura, viável e eficiente no controle de fungos fitopatogênicos. Assim, o presente trabalho teve o objetivo de avaliar a inibição da germinação *in vitro* dos escleródios dos fungos *S. sclerotiorum* e *S. rolfii* com o uso dos óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* (cravo), *Rosmarinus officinalis* (alecrim), *Cymbopogon citratus* (capim-limão) e *Elionorus muticus* (capim carona). Os óleos essenciais de cravo, alecrim e capim-limão foram adquiridos comercialmente. O óleo de capim carona foi extraído através de hidrodestilação em aparelho de Clevenger. Para a produção de escleródios foi utilizado isolados do laboratório de fitopatologia da UFSC campus de Curitiba, dessifectados e acondicionados em placas de Petri com meio BDA por 15 e 30 dias para *S. rolfii* e *S. sclerotiorum* respectivamente. Os escleródios dos dois fungos foram separadamente imersos em uma solução com óleo essencial de cravo, alecrim, capim limão e capim carona na concentração de 5000 ppm e Tween 20 a 0,5%, por 30; 90 e 180 minutos. Os escleródios foram acondicionados em placas de Petri contendo meio de cultura Ágar-Água (AA) mantidos em câmara de crescimento BOD com fotoperíodo de 12 horas a 24 °C. A avaliação da germinação dos escleródios foi iniciada 24 horas após a instalação do experimento, sendo realizadas diariamente, perdurado até o décimo segundo dia. Nessa avaliação, com auxílio de um microscópio estereoscópio, foi realizado a contagem do número de escleródios germinados e não germinados, considerou-se germinados quando havia presença de hifas ao redor do escleródio e sobre o meio de cultura; e não germinados quando na ausência de hifas. Os dados obtidos do experimento *in vitro* foram submetidos à análise de sobrevivência por meio do cálculo das curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier utilizando a função survfit do pacote survival do software estatístico R. A extração de óleo essencial de capim carona por hidrodestilação em aparelho graduado de Clevenger apresentou rendimento de 1% (v/m). O óleo essencial de alecrim não apresentou bons resultados em ambos os fungos. O óleo de capim carona mostrou potencial de inibir a germinação de *S. sclerotiorum* e não foi eficiente quando testado sobre *S. rolfii*. O óleo de cravo não foi eficiente no controle da germinação de *S. sclerotiorum*, já sobre *S. rolfii* apresentou efeito positivo em todos os tratamentos, inibindo a germinação em 100% e 50% nos tratamentos de 90 e 180 minutos respectivamente. O óleo de capim limão sobre *S. sclerotiorum* não foi eficiente no controle da germinação, para *S. rolfii* no tratamento de 180 minutos inibiu 95% da germinação. O procedimento de isolamento e cultivo *in vitro* em placas de Petri com meio BDA permitiu a multiplicação e obtenção dos escleródios suficientes para os experimentos com os dois fungos. O aparelho de Clevenger se mostrou eficiente na extração do óleo essencial de capim carona. O óleo de capim carona foi o mais eficiente na inibição da germinação de *S. sclerotiorum*, inibindo em 35% no tratamento de 180 minutos. Sobre *S. rolfii* o óleo essencial de cravo e capim limão foram os mais eficientes na inibição da germinação, inibindo em 100% e 95% respectivamente.

**Palavras-chave:** Plantas medicinais. Controle Alternativo. Mofo branco. Podridão da raiz.

## ABSTRACT

*Sclerotinia sclerotiorum* fungus belongs to the phylum Ascomycota, which causes white mold and can infect more than 500 plants in all producing regions of the world. *Sclerotium rolfsii* is a fungus belonging to the phylum Basidiomycota, which causes root and neck rot, wilt and seedling falling, attacking several botanical families. Both fungi produce sclerotia, the fungus's resistance structures. Sclerotia are hard to control and can stay in the soil for ten years, germinating when favorable conditions occur. The substances produced by some plants perform as anti-fungal agents or fungicides and have been a safe, viable and efficient alternative for the control of phytopathogenic fungi. Thereby, this study aimed to evaluate *in vitro* inhibition of the sclerotia of the fungi *S. sclerotiorum* and *S. rolfsii* using the essential oils of *Syzygium aromaticum*, *Rosmarinus officinalis*, *Cymbopogon citratus* and *Elionorus muticus*. *S. aromaticum*, *R. officinalis* and *C. citratus* essential oils were purchased commercially. The oil *E. muticus* was extracted through hydrodistillation in a Clevenger apparatus. For sclerotia production, isolates from the phytopathology laboratory of the UFSC Campus of Curitibanos were used, disinfected and put into Petri dishes with PDA medium for 15 and 30 days for *S. rolfsii* and *S. sclerotiorum*, respectively. The sclerotia of both fungi were separately immersed in an essential oil solution of *S. aromaticum*, *R. officinalis*, *C. citratus* and *E. muticus* at a concentration of 5000 ppm and Tween 20 to 0.5%, for 30; 90 and 180 minutes. The sclerotia were stowed in Petri dishes containing Agar-Agar (AA) culture medium kept in a BOD growth chamber with a 12-hour photoperiod at 24 °C. The evaluation of sclerotia germination started 24 hours after the experiment setup, being executed daily, lasting until the twelfth day. In this evaluation, with the support of a stereoscopic microscope, the number of germinated sclerotia and non-germinated sclerotia was counted, it was considered germinated when there was the presence of hyphae around the sclerotium and on the culture medium; and non-germinated when in the absence of hyphae. The data obtained from the *in vitro* experiment were subjected to survival analysis by calculating the Kaplan-Meier survival curves using the *survfit* function of the survival package of the R. statistical software. The extraction of essential oil *E. muticus* by hydrodistillation in a graduated Clevenger apparatus showed a 1% yield (v/m). *R. officinalis* essential oil didn't show good results for both fungi. The *E. muticus* oil showed potential to inhibit the germination of *S. sclerotiorum* and was not efficient when tested on *S. rolfsii*. *S. aromaticum* oil was not efficient in controlling the germination of *S. sclerotiorum*, while on *S. rolfsii* it showed a positive effect in all treatments, inhibiting germination by 100% and 50% in the treatments of 90 and 180 minutes, respectively. *C. citratus* oil on *S. sclerotiorum* was not efficient in controlling germination, for *S. rolfsii*, in the 180-minute treatment, it inhibited 95% of germination. The isolation and *in vitro* cultivation procedure in Petri dishes with PDA medium allowed the multiplication and obtaining of sufficient sclerotia for the experiments with both fungi. The Clevenger apparatus proved to be efficient in extracting the essential oil from *E. muticus*. *E. muticus* oil was the most efficient in inhibiting the germination of *S. sclerotiorum*, inhibiting it by 35% in the 180-minute treatment. About *S. rolfsii*, *S. aromaticum* and *C. citratus* essential oil were the most efficient in inhibiting its germination, inhibiting by 100% and 95%, respectively.

**Keywords:** Medicinal plants. Alternative Control. White mold. Root rot.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Camadas do escleródio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .....	17
Figura 2 - Escleródios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> retirados de plantas de soja.....	17
Figura 3 – Ciclo simplificado de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> . ....	19
Figura 4 - Planta de soja atacada por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> entrando em processo de senescência precoce (A); Formação de hifas e escleródios em caule de soja após infecção de ascósporos ter ocorrido na flor localizada na gema axilar (B). ....	21
Figura 5 – Escleródios de <i>Sclerotium rolfii</i> em placa de Petri com meio Ágar Água (A) e os escleródios de <i>Sclerotium rolfii</i> em placa de Petri em meio BDA (B). ....	22
Figura 6 - Plântula de tomate com infecção inicial de <i>Sclerotium rolfii</i> na região do caule(A); plântula de tomate com caule seco após ataque de <i>Sclerotium rolfii</i> (B). ....	23
Figura 7 - Botões florais do cravo da índia ( <i>Syzygium aromaticum</i> ) utilizados para extração de óleo essencial.....	28
Figura 8 – Planta de alecrim ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) cultivada em vaso. ....	29
Figura 9 – Planta de capim carona ( <i>Elionurus muticus</i> ).....	30
Figura 10 - Plantas de capim limão ( <i>Cymbopogon citratus</i> ).....	31
Figura 11 - Aparelho de Clevenger (A); óleo de capim carona ( <i>Elionurus muticus</i> ) sendo depositado durante o processo de hidrodestilação (B). ....	33
Figura 12 – Placas de Petri com 6 escleródios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> acondicionadas em BOD após tratamento com óleo. UFSC/Campus de Curitibaanos,2021.....	34
Figura 13 - Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier para a inibição da germinação (%) de escleródios do fungo <i>Sclerotium rolfii</i> tratados ou não com óleo essencial (0 e 5000 ppm) de alecrim ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ). ....	37
Figura 14 - Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier para a porcentagem de inibição da germinação (%) de escleródios do fungo <i>Sclerotium rolfii</i> tratados ou não com óleo essencial 0 e 5000 ppm) de capim carona ( <i>Elionurus muticus</i> ) .....	38
Figura 17 - Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier para a porcentagem de inibição da germinação (%) de escleródios do fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> tratados ou não com óleo essencial (0 e 5000 ppm) de alecrim ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ).....	41
Figura 18 - Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier para a porcentagem de inibição da germinação (%) de escleródios do fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> tratados ou não com óleo essencial (0 e 5000 ppm) de capim carona ( <i>Elionurus muticus</i> ).....	42

Figura 19 - Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier para a porcentagem de inibição da germinação (%) de escleródios do fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> tratados ou não com óleo essencial (0 e 5000 ppm) de cravo ( <i>Syzygium aromaticum</i> ). .....	43
Figura 20 - Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier para a porcentagem de inibição da germinação (%) de escleródios do fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> tratados ou não com óleo essencial (0 e 5000 ppm) de capim-limão ( <i>Cymbopogon citratus</i> ). .....	44

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

AA: Meio Ágar-Água

BDA: Batata-Dextrose-Ágar

BOD: Biochemical Oxygen Demand

DIC: Delineamento Inteiramente Casualizado

MAPA: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

R: Software estatístico

AGROFIT – Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários

## LISTA DE SÍMBOLOS

® Marca Registrada

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>15</b>
2.1	OBJETIVO GERAL.....	15
2.2	OBJETIVO ESPECÍFICO.....	15
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>16</b>
3.1	MOFO BRANCO.....	16
3.2	PODRIDÃO DA RAIZ.....	17
3.3	CICLO DE VIDA DE <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> E <i>Sclerotium rolfsii</i> .....	18
3.4	CONTROLE BIOLÓGICO.....	23
3.5	CONTROLE QUÍMICO.....	24
3.6	CONTROLE CULTURAL.....	25
3.7	CONTROLE ALTERNATIVO COM O USO DE PLANTAS MEDICINAIS.....	26
<b>3.7.1</b>	<b>Cravo.....</b>	<b>27</b>
<b>3.7.2</b>	<b>Alecrim.....</b>	<b>28</b>
<b>3.7.3</b>	<b>Capim carona.....</b>	<b>29</b>
<b>3.7.4</b>	<b>Capim limão.....</b>	<b>30</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>32</b>
4.1	OBTENÇÃO DOS FUNGOS.....	32
4.2	OBTENÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS.....	32
4.3	AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO DOS ESCLERÓDIOS.....	33
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>36</b>
5.1	OBTENÇÃO DOS FUNGOS E EXTRAÇÃO DE ÓLEO DE CAPIM CARONA .....	36
5.2	ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE <i>Sclerotium rolfsii</i> .....	36
5.3	ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .....	40
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>47</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>48</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Os fungos *Sclerotinia sclerotiorum* pertence ao filo Ascomycota e *Sclerotium rolfsii* pertence ao filo Basidiomycota, ambos causam doenças popularmente conhecidas como mofo branco e podridão da raiz, respectivamente. As duas espécies de fungos possuem uma ampla gama de hospedeiros em todo o mundo, entre elas monocotiledôneas e dicotiledôneas. Ambos os fungos possuem a capacidade de formar estruturas de resistência denominadas escleródios. Os escleródios são constituídos por um aglomerado de hifas recoberto por uma camada de melanina que oferece proteção física ao fungo. Os escleródios de *S. sclerotiorum* podem permanecer no solo por até 10 anos sem perder sua viabilidade (JULIATTI *et al.*, 2015; JACCOUD *et al.*, 2017), enquanto os escleródios de *S. rolfsii* podem sobreviver entre um ano e 15 meses (ACHIEME *et al.*, 2009; MARCUZZO; SCHULLER, 2014).

Devido a esses patógenos estarem ligados ao solo por meio de estruturas de resistência, o controle se torna uma tarefa difícil. Além disso, o controle exige a adoção de várias medidas combinadas aliada a tomada de decisões complexas, isso tem contribuído para a evolução da doença no Brasil e no mundo (JULIATTI *et al.*, 2015). O controle químico vem sendo usado de forma isolada a fim de controlar a doença e quando utilizado de forma errônea, traz danos ambientais e a saúde dos consumidores, além da seleção de fungos resistentes (EMBRAPA, 2004).

Com isso, a busca por alternativas de controle, principalmente a longo prazo, surge como uma opção viável. Produtos à base de plantas medicinais podem minimizar esses problemas e se tornar uma ferramenta no controle desses fitopatógenos. A partir das plantas medicinais é possível obter compostos secundários como os óleos essenciais e extratos, que possuem potencial fungitóxico e são ecologicamente menos agressivos ao meio ambiente (FONSECA *et al.*, 2015).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito de diferentes tempos de exposição de óleos essenciais de diferentes espécies de plantas na inibição da germinação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*, em condições *in vitro*.

### 2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

Isolar e multiplicar *in vitro* os fungos *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii*.

Extrair óleo essencial de folhas de capim carona (*Elionorus muticus*) através de hidrodestilação em aparelho de Clevenger.

Avaliar *in vitro*, a capacidade de inibição na germinação dos escleródios de *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii* através do tratamento com óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* (cravo), *Rosmarinus officinalis* (alecrim), *Cymbopogon citratus* (capim limão) e *Elionorus muticus* (capim carona) na dose de 5000 ppm nos tempos de 30; 90 e 180 minutos de imersão aos óleos.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 MOFO BRANCO

*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary é um fungo patogênico considerado inespecífico, teve sua primeira descrição por Bary em 1884, pertence ao Filo Ascomycota, classe Ascomycetes subclasse Discomycetes, ordem Helotiales, Família Sclerotiniaceae, Gênero *Sclerotinia* e espécie *sclerotiorum*. No Brasil seu primeiro registro data em 1921 por Saccá, que verificou o fungo incidindo na cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.), no estado de São Paulo. Nos anos seguintes a doença foi relatada em diversas outras culturas de importância comercial, sua ocorrência pode acarretar em perdas de até 70% na produção (JULIATTI *et al.*, 2015; JACCOUD *et al.*, 2017).

É um fungo necrotrófico e que se encontra amplamente disseminado no mundo, atacada aproximadamente 48 famílias, 500 espécies de plantas e 200 gêneros botânicos, incluindo diversas espécies de interesse econômico (como feijão, soja, algodão, canola, girassol, amendoim, ervilha, alface, batata, tomate cenoura, e tabaco), plantas forrageiras, frutíferas, ornamentais, árvores, arbustos e plantas daninhas. (JULIATTI *et al.*, 2015).

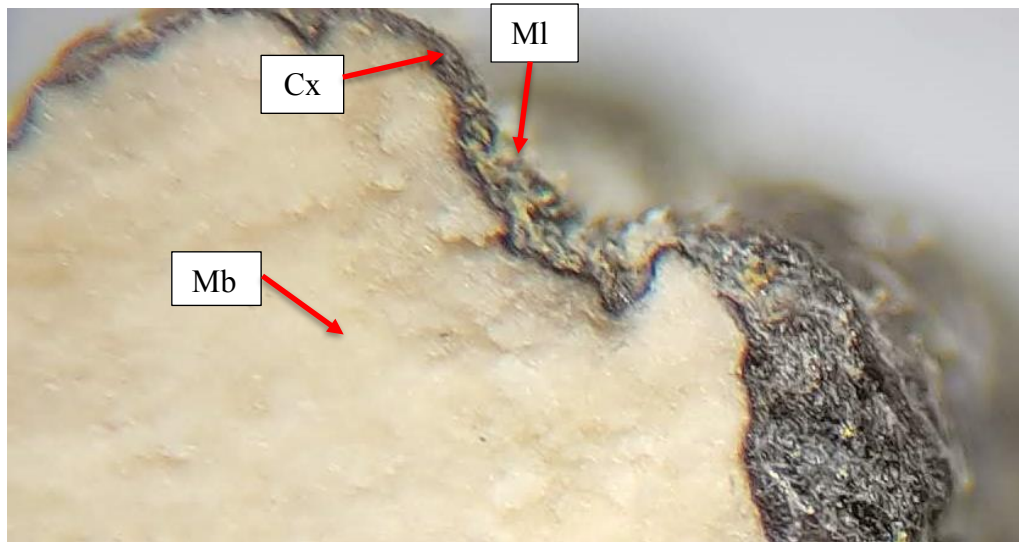
A sobrevivência do fungo pode ocorrer na ausência do hospedeiro suscetível, através de estruturas de resistência denominadas de escleródios, que podem permanecer no solo viáveis por até 10 anos (JACCOUD *et al.*, 2017). A viabilidade do escleródio no solo é variável, a depender de tipo de solo, pH, cultura antecessora, condições ambientais e a presença de microrganismos que causam sua degradação. Os escleródios presentes do solo quando na presença de um hospedeiro, aliadas a temperatura, pH e presença de luz cria condições favoráveis para sua germinação, podendo essa ser milelogênica ou carpogênica. A primeira ocorre pela produção de hifas que infectam a planta a partir do micélio. A segunda ocorre pela produção de ascósporos que infectam partes superiores das plantas, levando-as à morte (JULIATTI *et al.*, 2015).

Os escleródios são formados pelo condensamento de hifas, composta por três camadas diferentes: uma parede grossa coberta por melanina, uma parede fina denominada córtex, e uma última camada denominada medula branca, composta pelo micélio do fungo (Figura 1). A forma e tamanho dos escleródios variam de acordo com a espécie hospedeira. (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006; JACCOUD *et al.*, 2017). Na Figura 2 pode ser observado



escleródios de *S. sclerotiorum* com diferentes tamanhos e formatos, todos retirados de plantas de soja (*Glycine max*).

Figura 1 Camadas do escleródio de *Sclerotinia sclerotiorum*.



Fonte: Autor (2021). Legenda: (MI) Camada de melanina; (Cx) CórTEX; (Mb) Micélio.

Figura 2 - Escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* retirados de plantas de soja.



Fonte: Autor (2021).

### 3.2 PODRIDÃO DA RAIZ

A espécie *Sclerotium rolfsii* Sacc pertence ao filo Basidiomycota e a Ordem Atheliales, apresenta fase de desenvolvimento assexual, onde não há produção de esporos, somente formação de escleródios (AGRIOS, 2005). O crescimento micelial é caracterizado pela aglomeração de hifas, sendo as mesmas septadas, hialinas e bastante ramificadas. O fungo ainda

forma estruturas de resistência chamadas de escleródios, que geralmente possuem coloração marrom escura a preta e o tamanho variam de 0,5 mm a 2,0 mm de diâmetro, por isso, também podem ser denominadas de microescleródios (PUNJA; RAHE, 1985). Esse fitopatógeno possui uma vasta gama de plantas hospedeiras, cerca de 500 espécies vegetais pertencentes a aproximadamente 100 famílias botânicas. A alface, o alho, a cebola, a batata, a cenoura, o feijão, a soja e o tomate são algumas das hospedeiras do fungo.

O ataque do fungo é caracterizado por causar murchamento, seguido de tombamento de plântulas e por fim podridões de raízes, colo, bulbos e frutos. As condições climáticas ideais para o crescimento micelial desse fungo são alta umidade e temperaturas entre 25°C e 35°C (KIMATI *et al.*, 2005). Porém, quando não encontra condições favoráveis, pode sobreviver no solo, entre um e cinco anos, sob a forma de escleródio (ACHIEME *et al.*, 2009; MARCUZZO; SCHULLER, 2014). Desta maneira, *S. rolfsii* torna-se um fungo de difícil controle por apresentar essa estrutura de resistência, sendo necessárias a adoção de diferentes ferramentas de controle de forma conciliada.

### 3.3 CICLO DE VIDA DE *Sclerotinia sclerotiorum* E *Sclerotium rolfsii*

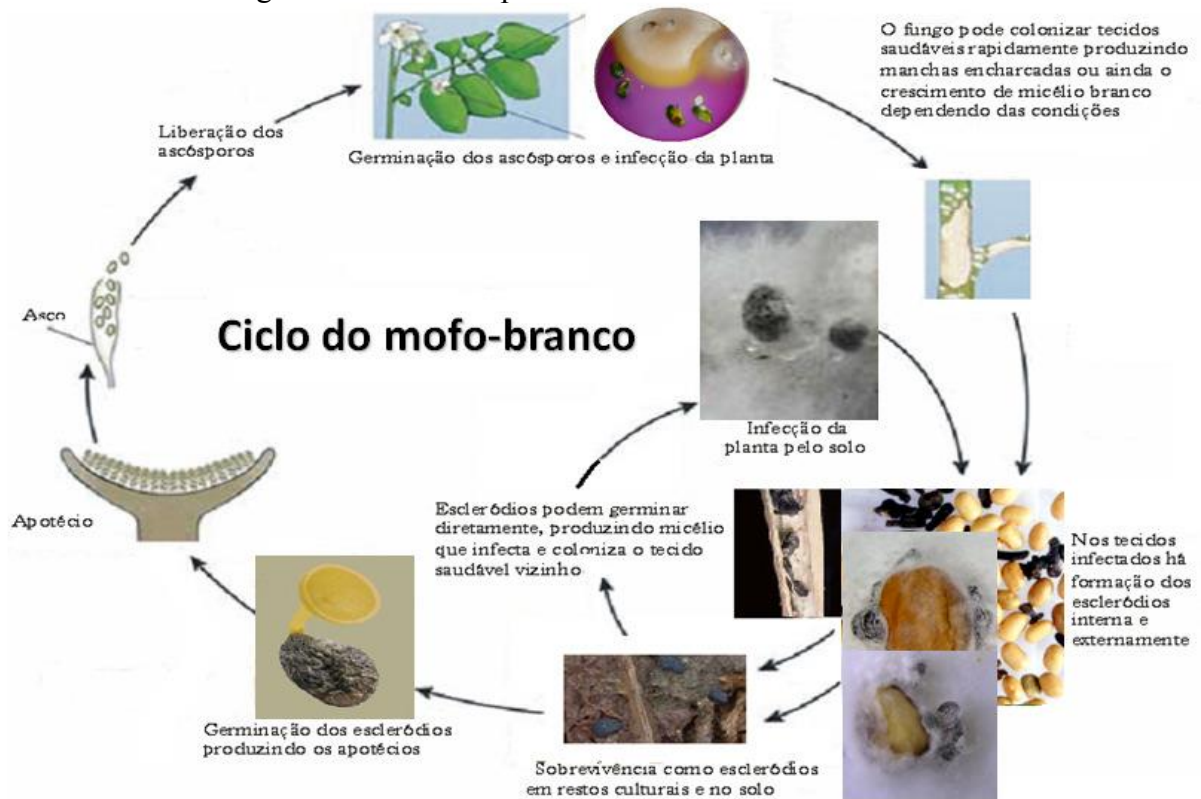
A formação de escleródios está inteiramente ligada ao ciclo de vida de *S. sclerotiorum* fungo, podendo ocorrer de duas maneiras, através da produção de micélio (miceliogênica) e por ascósporos (carpogênica). A primeira forma ocorre pela formação de micélio através do escleródio, o micélio infecta diretamente caules e outros tecidos das plantas causando tombamento em pré e pós emergência. Temperaturas entre 18 e 25 °C são consideradas ideais para formação e crescimento do micélio. Já a germinação carpogênica ocorre apenas em *S. sclerotiorum*, ocorrendo quando há formação de apotécios no escleródio, escleródios do solo com até 5 cm de profundidade podem germinar dessa maneira originando apotécios viáveis (MILA; YANG, 2008; JACCOUD *et al.*, 2017).

As condições ótimas para a formação de apotécios são de 10 a 14 dias com o solo próximo a capacidade de campo, e temperaturas entre 15 e 18 °C, podendo ser inibido por temperaturas superiores a 20 °C, podendo permanecer viáveis até 17 dias. Um escleródio grande (13 x 5mm) pode originar até 20 apotécios, podendo produzir até 2 milhões de ascósporos em cada apotécio (JACCOUD *et al.*, 2017). Quando em contato com um substrato ideal ocorre a germinação do ascósporo, uma substância conhecida como mucilagem é liberada juntamente

com os ascósporos e auxiliam na adesão deste com a os tecidos das plantas. Para que os ascósporos germinem é necessário temperaturas entre 15 e 25 °C, é necessário também uma fonte de energia exógena, geralmente no florescimento, os tecidos novos, como pétalas de flores, são portas de infecção pelo fungo (Figura 3) (ABAWI; GROGAN, 1975).

Em condições favoráveis ao desenvolvimento do fungo, a infecção das partes sadias da planta pode ocorrer entre 16 e 24 horas após infecção do tecido floral, paralisando sua ação ao se deparar com o clima não favorável. Permanecendo viável até que ocorra condições favoráveis para seu desenvolvimento (MILA; YANG, 2008; JACCOUD *et al.*, 2017).

Figura 3 – Ciclo simplificado de *Sclerotinia sclerotiorum*.



Fonte: Agrios (2005).

Após a infecção dos tecidos do hospedeiro ocorre o desenvolvimento de hifa em vesícula localizada entre a cutícula e a camada de células da epiderme e intracelularmente ao córtex da planta. Ao infectar a planta o pH neutro ou alcalino do tecido vegetal estimula a síntese de oxalato (pelo fungo), resultando em uma acidificação do meio, essa acidificação induz a atividade de muitas enzimas líticas do fungo. Estas enzimas são expressas e degradam a parede celular das células do hospedeiro, entre as principais enzimas se encontram: celulases,

hemicelulases e proteases. Posteriormente, a penetração é facilitada e o fungo consegue extrair energia da planta (BOLTON, THOMMA, NELSON, 2006; JACCOUD *et al.*, 2017).

Após esta colonização pelo fungo a massa de hifas emerge nos estômatos ou nas aberturas da cutícula, formando uma rede micelial semelhante a floco e algodão, originando os escleródios. Os escleródios serão dispersos na área na hora da colheita ou quando ocorrer a senescência natural da planta, permanecendo no solo até que ocorra condições favoráveis para sua germinação, além de servir como fonte de inóculo para as culturas subsequentes. Para que ocorra a germinação carpogênica é necessário que estes escleródios passem por um processo de maturação, que não ocorre na mesma estação (safra) que foi produzido, dessa forma a disseminação secundária do inóculo ocorre principalmente pelo contato de tecidos infectados com tecidos sadios de outras plantas hospedeiras (JACCOUD *et al.*, 2017).

Nas lavouras comerciais é mais comum o início da doença a partir de sementes infectadas com micélio dormente no interior das sementes e por meio dos ascósporos produzidos pelos apotécios que estão no solo ou que são trazidos junto aos lotes de sementes no momento da semeadura (JACCOUD *et al.*, 2017). É rara a ocorrência da doença a partir do micélio originado dos escleródios do solo. A infecção ocorre entre 10 a 15 cm do solo na junção do pecíolo com a haste da planta, onde as flores ficam aderidas. Os sintomas iniciais são lesões encharcadas, produzidas pela diluição da lamela média da planta, ocasionadas por enzimas pectíneas, e outras citadas anteriormente que são produzidas pelo fungo (VENTUROSOSO *et al.*, 2015).

Com a evolução do crescimento das hifas no interior dos tecidos da planta a massa micelial adquire coloração marrom, ocorre a interrupção no translocamento de seiva pelos vasos condutores, e com a evolução da doença as folhas murcham e sofrem clorose, ficam secas leves e quebradiças, como observado na Figura 4. Já as sementes infectadas ficam sem brilho, enrugadas e mais leves que as normais (VENTUROSOSO *et al.*, 2015).

Figura 4 - Planta de soja atacada por *Sclerotinia sclerotiorum* entrando em processo de senescência precoce (A); Formação de hifas e escleródios em caule de soja após infecção de ascósporos ter ocorrido na flor localizada na gema axilar (B).



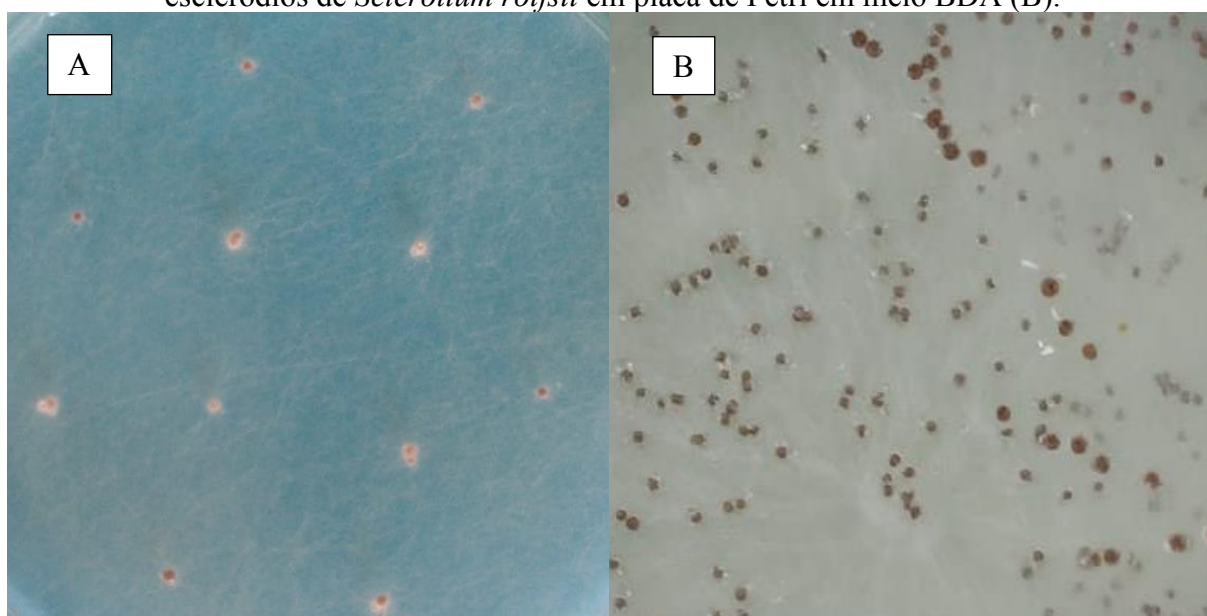
Fonte: Autor (2019).

A coloração escura que recobre os escleródios se dá pela presença da melanina, um pigmento de alto peso molecular, sua composição química ainda não é bem conhecida. A deposição de melanina no escleródio reduz a permeabilidade celular e protege essas estruturas dos agentes ambientais com UV e degradação por enzimas, produzidas pelo próprio fungo ou outro microrganismo (ERENTAL *et al.*, 2008).

Assim como *S. sclerotiorum*, *S. rolfsii* é também um fungo habitante do solo com relação de parasitismo, matando o tecido hospedeiro antes de penetrá-lo (LUTRELL, 1974) o que causa grandes danos às plantas afetadas. Durante o processo de parasitismo produz ácido oxálico que se combina com o cálcio presente no tecido hospedeiro o que propicia a ação de enzimas pectolíticas, responsáveis pela sua degradação (DEACON, 1997). Por ocorrer na forma

anamórfica não produz esporos nem corpos de frutificação, sendo observadas somente hifas brancas e espessas. Assim como ocorre para *S. sclerotiorum* ocorre também a formação de escleródios para *S. rolfsii*, ocorrendo o agregamento de hifas com acúmulo de nutrientes como glicogênio e lipídios, ocorre também a deposição de melanina na camada mais externa do escleródio. Essa camada fornece proteção as hifas do fungo o que dificulta seu controle, diferente de *S. sclerotiorum* que apresenta escleródios de diferentes tamanhos e formatos, *S. rolfsii* forma escleródios pequenos, arredondados e uniformes, com tamanho médio de 1 a 3 mm de diâmetro, como mostra a Figura 5.

Figura 5 – Escleródios de *Sclerotium rolfsii* em placa de Petri com meio Ágar Água (A) e os escleródios de *Sclerotium rolfsii* em placa de Petri em meio BDA (B).



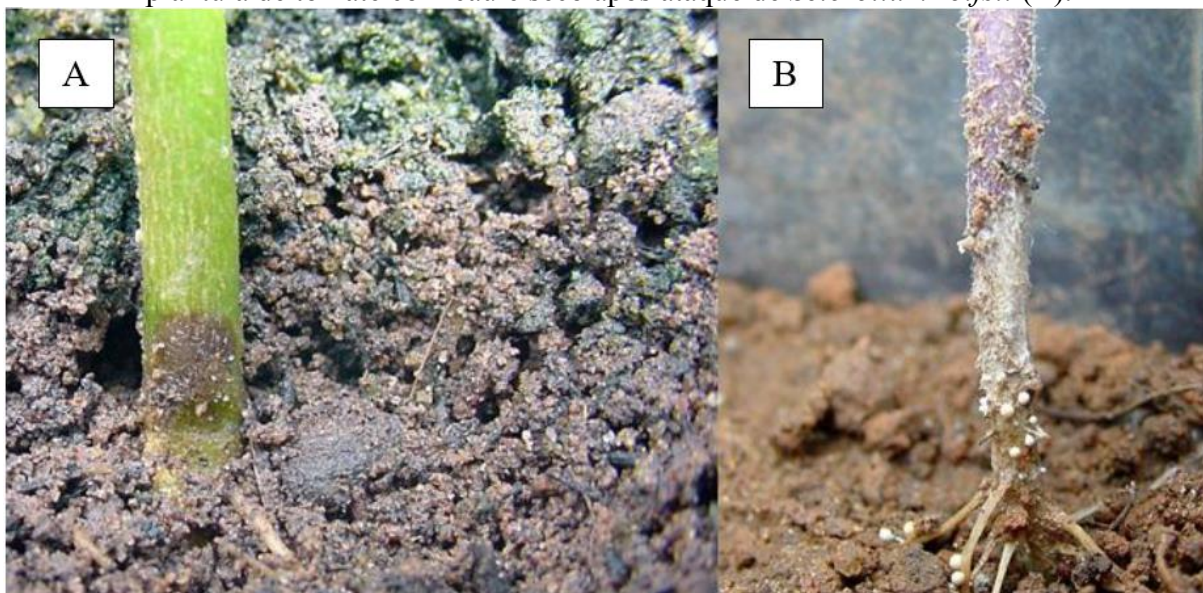
Fonte: Autor (2019).

*S. rolfsii* é capaz de se desenvolver em uma grande amplitude de temperatura, que compreende uma faixa de 8 a 40 °C, sendo que as condições ideais de crescimento vegetativo e formação de escleródios são alta umidade do solo e temperaturas entre 27 e 30 °C (PUNJA, 1985; KIMATI *et al*, 2005). Em condições favoráveis os escleródios podem apresentar duas formas de germinação: do tipo micelial ou eruptiva. A germinação micelial se caracteriza pelo crescimento de algumas hifas individualizadas que se originam de células da medula, sendo capazes de infectar uma planta a uma distância menor que escleródios que germinam de forma eruptiva, em que agregados de micélio surgem da camada externa do escleródio. A germinação dos escleródios é inibida em condições de pH em torno de 7, entretanto pH na faixa de 2 a 5 é

uma condição considerada ótima para o seu desenvolvimento (PUNJA, 1985), característica do solo que pode ser influenciada pela fonte de nutrientes utilizada para adubação (KIMATI *et al.*, 2005).

O fungo afeta o caule e raízes das culturas hospedeiras, principalmente mudas novas que possuem o tecido na região do colo menos lignificado. Em plantas com desenvolvimento mais avançado observa-se um murchamento associado ao estrangulamento do caule na região do colo, com a presença de micélio branco, cottonoso e com formação de novos escleródios, como pode ser observado na Figura 6. Nos frutos próximos do solo o fungo pode causar podridão, ocorrendo também a produção de escleródios (VIEIRA; NECHET; PEREIRA, 2003).

Figura 6 - Plântula de tomate com infecção inicial de *Sclerotium rolfsii* na região do caule(A); plântula de tomate com caule seco após ataque de *Sclerotium rolfsii* (B).



Fonte: Vieira; Nechet e Pereira (2003).

### 3.4 CONTROLE BIOLÓGICO

O controle biológico pode ser definido como uma prática que visa o controle de um patógeno, através de um microrganismo antagonista de ocorrência natural ou introduzido em massa no ambiente. Dezenas de microrganismos nativos parasitam os escleródios, tais como espécies de: *Aspergillus*; *Fusarium*; *Rhizopus*; *Penicillium*; *Trichoderma*; *Bacillus* entre outros (MEYER *et al.*, 2020).

Entre os principais antagonistas, as espécies de *Trichoderma* spp. ganham destaque, tendo alta eficiência de controle a campo (até 70%). Sua ação foi demonstrada pela primeira vez em 1932 por Weindling, que sugeriu seu uso no controle da doença. Por se tratar de um microrganismo necrotrófico apresenta grande eficácia no controle de fungos fitopatogênicos, principalmente aqueles que possuem estruturas de resistência como escleródios, que são considerados de difícil controle por outros microrganismos.

Em consulta ao Agrofit (2021) é possível encontrar 34 produtos biológicos registrados pelo MAPA para o controle de *S. sclerotiorum*, dentre todos são a base de *Trichoderma*. Recentemente, vem sendo utilizado *Bacillus* spp. como agente de controle biológico de *S. sclerotiorum*, trazendo resultados promissores, seja puro ou em associação com *Trichoderma* (MEYER *et al.*, 2020; AGROFIT, 2021). Para o controle biológico de *S. rolfsii* não foram encontrados produtos registrados no MAPA.

### 3.5 CONTROLE QUÍMICO

O uso de fungicidas por meio de aplicações foliares é o meio de controle mais recorrente de mofo branco, principalmente nas culturas de grãos, como soja, feijão, algodão e girassol. Normalmente, as aplicações são feitas no início do período reprodutivo da cultura, seguido de aplicações sequenciais, variando em quantidade e período de aplicação de acordo com cada produto e cultura (MEYER *et al.*, 2019). Dentre os produtos testados os melhores resultados na redução da incidência da doença foram obtidos quando utilizados fungicidas a base de tiofanato metílico com 32% de controle. Sendo que não ocorreu diferença na incidência da doença entre as outras moléculas testadas (MEYER *et al.*, 2019).

O controle químico de mofo-branco continua sendo uma das principais medidas de controle da doença na cultura da soja, entretanto, devido a constante produção de inóculo, e as mutações que ocorrem de forma rápida, mesmo que reduzida com a aplicação de fungicidas eficientes, e considerando-se também as variações ambientais que afetam a eficiência do controle químico, a adoção das demais medidas de controle vem se mostrando cada vez mais necessárias para o manejo da doença (DILANTHA; NAKKEERAN; MEYER *et al.*, 2019).

Em consulta ao Agrofit (2021) é possível encontrar 15 produtos para o controle químico com registro no MAPA de *S. rolfsii* já para *S. sclerotiorum* são 29 produtos registrados.



### 3.6 CONTROLE CULTURAL

Importante lembrar que é impossível erradicar *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii* de áreas infestadas, sendo assim deve se adotar diferentes ferramentas de controle de maneira integrada para impedir que a doença se propague e aumente os níveis de ocorrência na área, sendo necessário buscar um nível de convivência com o patógeno.. Uma das melhores ferramentas para o manejo de *S. sclerotiorum* é a eliminação do inóculo inicial, o escleródio (MACENA *et al.*, 2011).

O plantio direto tem se mostrado muito eficiente no controle de *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii* principalmente quando associado a rotação de culturas com plantas não hospedeiras da doença. Uma vez que o aporte de palhada nos sistemas favorece o desenvolvimento de microrganismos capazes de realizar o controle biológico degradando os escleródios. Outra contribuição do plantio direto é a manutenção de umidade no solo nos primeiros centímetros, favorecendo o apodrecimento e deixando os escleródios inviáveis. Para que os escleródios de *S. sclerotiorum* germinam e ocorra o crescimento do apotécio é necessário a presença de luz solar, assim além da palha promover barreira física na dispersão dos ascósporos, promove também interceptação da luz solar (PEREIRA *et al.*, 2013).

O uso de sementes de qualidade e certificadas vem de encontro com uma ferramenta essencial no controle de *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii*, visto que o mesmo pode sobreviver em sementes infectadas como micélio dormentes e em cotilédones por até 3 anos. Em 2009, a portaria nº 47 do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) passou a recomendar que sejam recusados lotes de sementes de soja que apresentam um único escleródio. Essa medida de controle foi muito importante para amenizar a velocidade de disseminação do fungo no país, principalmente em áreas livres do fungo (MACENA *et al.*, 2011; JACCOUD *et al.*, 2017).

A escolha correta das cultivares em áreas que já contém o patógeno também tem se mostrado importante no seu manejo. Espaçamentos inferiores a 50 cm com altos stands, normalmente apresentam o fechamento entre linhas mais rápido e assim proporciona a formação de condições favoráveis para a germinação dos escleródios e posterior infecção pelo patógeno (MACENA *et al.*, 2011; JACCOUD *et al.*, 2017).

### 3.7 CONTROLE ALTERNATIVO COM O USO DE PLANTAS MEDICINAIS

A agricultura convencional tem reduzido a qualidade do solo, levando a desequilíbrios e sérios problemas com doenças radiculares e vasculares. O manejo dessas doenças tem se tornado um desafio na agricultura, uma vez que requer a aplicação de agrotóxicos muitas vezes altamente tóxicos ao meio. Além disso, o impacto gerado pela utilização dos agrotóxicos no meio ambiente, na saúde humana e na redução da sensibilidade a patógenos tem sido discutido, devido à pressão da sociedade por uma agricultura mais sustentável (DILANTHA; NAKKEERAN; ZHANG, 2004; FONSECA *et al.*, 2015; KREYCI *et al.*, 2018 QUEIROZ *et al.*, 2020).

Sendo assim se torna necessário à validação de novas tecnologias para que o manejo fitossanitário seja feito de forma menos agressiva, em termos ambientais, econômicos e sociais.

Nesta perspectiva, o uso de produtos alternativos, como plantas medicinais que podem ser exploradas na obtenção de soluções com potencial fungicida, a partir de extratos brutos, e/ou óleos essenciais se mostra como uma alternativa viável e promissora (DILANTHA; NAKKEERAN; ZHANG, 2004; BRUM *et al.*, 2014; FONSECA *et al.*, 2015).

Recentemente foi liberado o primeiro Nematicida Formulado (Fitoquímico) registrado junto ao MAPA/ANVISA e IBAMA recomendado no controle dos nematóides fitopatógenos dos cultivos de soja, tomate e cana-de-açúcar (em processo) (VIGGA, 2020). É um insumo natural que contém extrato de alho como principal constituinte de sua formulação. Foi também registrado um produto a base de óleo de laranja, um inseticida, fungicida e acaricida que atua sobre muitas espécies de pragas e doenças que normalmente requerem diferentes produtos para controlar. Isso mostra que as pesquisas públicas e privadas vêm investindo e obtendo sucesso no desenvolvimento de novas ferramentas de controle para uso em todas as escalas de produção.

Os óleos essenciais são substâncias complexas e atuam como inibidores de diversos fungos fitopatogênicos, como *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, *F. solani* f. sp. *phaseoli*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. minor*, *Rhizoctonia solani* e *Macrophomina phaseolina* (FONSECA *et al.*, 2015). Portanto, foram estudados a fim de apontá-los como alternativa de controle fitossanitário em plantações, com o objetivo de substituir o uso de agrotóxicos sintéticos. Os óleos essenciais podem ser definidos como misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, com características odoríferas, sabor acre (ácido) e consistência oleosa (FONTANA *et al.*, 2020). Possuem atividade óptica e índice de refração, sua coloração pode

ser levemente amarelada ou até incolor, quando recém extraídos, podem apresentar uma baixa estabilidade na presença de luz, calor, ar e umidade. Embora os óleos essenciais sejam uma mistura orgânica de vários compostos é comum apresentarem um composto majoritário (DILANTHA; NAKKEERAN; ZHANG, 2004; FONSECA *et al.*, 2015; KREYCI *et al.*, 2018; QUEIROZ *et al.*, 2020).

Os óleos essenciais são constituídos por substâncias de baixo peso molecular geralmente lipofílicas, características que permitem uma penetração eficiente na membrana celular. Estudos comprovaram que os óleos essenciais penetram nos tecidos cerca de 100 vezes mais rapidamente que a água (PAWAR; THAKER, 2006). Essa alta capacidade de penetração nas membranas confere aos compostos fenólicos, como o eugenol, atividade antimicrobiana. Estudos testando doses e intervalos de aplicações vem sendo trazendo resultados quanto a eficiência e fitotoxidez (QUEIROZ *et al.*, 2020).

### 3.7.1 Cravo

O cravo (*Syzygium aromaticum* L.) pertence à família Myrtaceae, originária das Ilhas Maluku, no leste da Indonésia (Figura 7). É uma planta que pode atingir até 12 metros de altura, cultivada em áreas costeiras em grandes altitudes, sua parte comercial são os botões florais (Figura 6) produzidos após o quarto ano de plantio e coletados antes do florescimento. O principal quimiotipo do óleo essencial de botões de flor é seu principal composto, o eugenol, um fenilpropanóide volátil amplamente utilizado na indústria farmacêutica, perfume, aromatizante antisséptico geral (AFFONSO *et al.*, 2012; TELES *et al.*, 2021).

Sabe-se que o óleo de cravo possui forte atividade antifúngica, principalmente fungos oportunistas *Aspergillus fumigatus*. O ingrediente essencial responsável por sua atividade antifúngica é o eugenol. Sua atividade antimicrobiana foi encontrada para ser maior contra fungos do que contra bactérias. Além do eugenol que representa 49 até 87% do conteúdo total também estão presentes B- cariofileno de 2 a 21%, acetato de eugenol variando de 0,5 até 21%, menos de 1% de A-humuleno, o restante são outros constituintes poucos expressivos e sem ação antimicrobiana (AFFONSO *et al.*, 2012; TELES *et al.*, 2021).

Figura 7 - Botões florais do cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*) utilizados para extração de óleo essencial.



Fonte: Mundo cerealista, 2020.

### 3.7.2 Alecrim

A espécie *Rosmarinus officinalis* L. pertence à família Labiateae é conhecida como alecrim, é uma planta de pequeno porte, aromática, e nativa da região do mediterrâneo, cultivada em quase todos os países de clima temperado, se desenvolvendo bem em ambientes amenos e clima ameno (Figura 8). O óleo essencial de alecrim é constituído por hidrocarbonetos monoterpênicos, ésteres terpênicos, linalol, 1,8-cineol, cânfora, terpineol, 3-octanona e acetato de isobornila, dentre outros compostos que agem normalmente na membrana citoplasmática dos microrganismos. Sendo o óleo essencial de alecrim considerado um fungicida natural, pois vem apresentando atividade inibitória no crescimento micelial de algumas espécies de fungos, como *Aspergillus flavus* e *Fusarium graminearum* (FARIA, 2005; BOMFIM *et al.*, 2019).

Na planta são encontradas as seguintes substâncias: ácidos, princípios amargos, nicotinamida, vitamina C, saponósido, colina, diversos triterpenóides, pineno, confeno, 1,8-cineol, monoterpênicos (borneol e limoneno), acetato de bornila, cânfora, diterpenos (carnosol, rosmanol), lineol, flavonóides e saponinas (PORTE; GODOY, 2001; MARCHIORI, 2004; SATYAL *et al.*, 2017).

Figura 8 – Planta de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) cultivada em vaso.



Fonte: Uemura, 2019.

### 3.7.3 Capim carona

A espécie *Elionurus muticus* (Spreng.) Kuntze conhecida popularmente como capim carona, pertence à família Poaceae, sendo de ocorrência comum em regiões tropicais e subtropicais, são plantas perenes, cespitosas e herbáceas variando entre 10 a 150 cm de altura (Figura 9). Em alguns países é tratada como uma planta medicinal e aromática, como na Argentina e Bolívia, já no Brasil ocorre como a gramínea mais abundante no pantanal mato-grossense, sendo tratada como planta daninha pelos agricultores (FULLER, 2013).

A espécie *E. muticus* tem sido considerada de grande potencial entre as principais gramíneas produtoras de óleos essenciais economicamente importantes, juntamente com espécies como capim limão *C. citratus* e outras do mesmo gênero. Vale ressaltar que *E. muticus* e todas as plantas medicinais citadas, tem tanto a composição química quanto a ação antimicrobiana variada em uma mesma planta devido a fatores ligados à biologia (genética, nutrição e fase de desenvolvimento), além de outros fatores (local, condições climáticas e tipo de solo) (FULLER, 2013).

Figura 9 – Planta de capim carona (*Elionurus muticus*).



Fonte: UFSC, 2019.

### 3.7.4 Capim limão

O capim limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) é uma gramínea perene originária da Índia, conhecida popularmente como capim cidró, capim santo ou erva cidreira (Figura 10). É amplamente distribuído e empregado na medicina popular como calmante e antimicrobiano. O óleo essencial da planta é muito utilizada na indústria alimentícia, cosméticos, perfumaria e na fabricação de inseticidas. No Brasil a produção comercial se destaca nos estados do Sul e Sudeste, concentrando-se no Paraná, maior estado produtor de plantas medicinais do país (HANAA; SALLAM; EL-LEITHY; ALY, 2012).

A planta pode atingir até 1 metro de altura, sendo usados para a extração do óleo as folhas e rizomas. A composição do óleo essencial é de geraniol e isômeros, aldeídos como:

citroneral, cetonas, além de terpenos, flavonoides e triterpenóides (HANAA; SALLAM; EL-LEITHY; ALY, 2012; TAJIDIN *et al.*, 2012).

Figura 10 - Plantas de capim limão (*Cymbopogon citratus*).



Fonte: Globo, 2013.

Pinto *et al.* (2015) verificaram que havia 65 compostos químicos detectados no óleo essencial de capim limão. No entanto, apenas 13 dos compostos estiveram presentes em cada estágio de maturação, isso reforça o que já foi dito anteriormente, a idade da planta é um fator que pode alterar significativamente o nível e quais compostos estão presentes. O teor de geraniol percentual e a composição percentual de geraniol e neral foram maiores quando o capim limão foi colhido 6,5 meses após o plantio. A porcentagem ótima estimada de conteúdo de citral foi obtida  $6,7 \pm 0,3$  meses após o plantio. Assim, *C. citratus* deve ser colhida entre 6,5 a 7,0 meses após o plantio para atingir o óleo essencial ideal com uma alta composição de geraniol (HANAA; SALLAM; EL-LEITHY; ALY, 2012; TAJIDIN *et al.*, 2012).

## 4 METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia situado na Universidade Federal de Santa Catarina – Centro de Ciências Rurais, Campus de Curitibanos localizada na Rodovia Municipal Ulisses Gaboardi, km 3, sendo as coordenadas geográficas 27°17'03" de latitude Sul e 50°32'13" longitude Oeste, e uma altitude de 1088 m (GOOGLE EARTH, 2021).

### 4.1 OBTENÇÃO DOS FUNGOS

Os fungos *S. rolfsii* e *S. sclerotiorum* foram obtidos através de escleródios da micoteca de Fitopatologia da Universidade Federal de Santa Catarina Campus de Curitibanos no ano de 2019 e 2020. No isolamento, os escleródios foram desinfetados durante 1 min. em álcool a 70%, 1 min. em hipoclorito de sódio a 2% e então enxaguados em água destilada de acordo com a metodologia de Punja e Rahe (1993).

Após o procedimento de desinfecção, os escleródios foram colocados em placas de Petri contendo meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar) e incubados em fotoperíodo de 12 horas a 25°C. Esse procedimento permitiu o desenvolvimento do micélio que, posteriormente, deu origem a uma maior quantidade de escleródios para realização dos experimentos. O período de incubação necessário para obtenção dos escleródios nestas condições foi de 30 dias para *S. sclerotiorum* e 15 dias para *S. rolfsii*.

### 4.2 OBTENÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

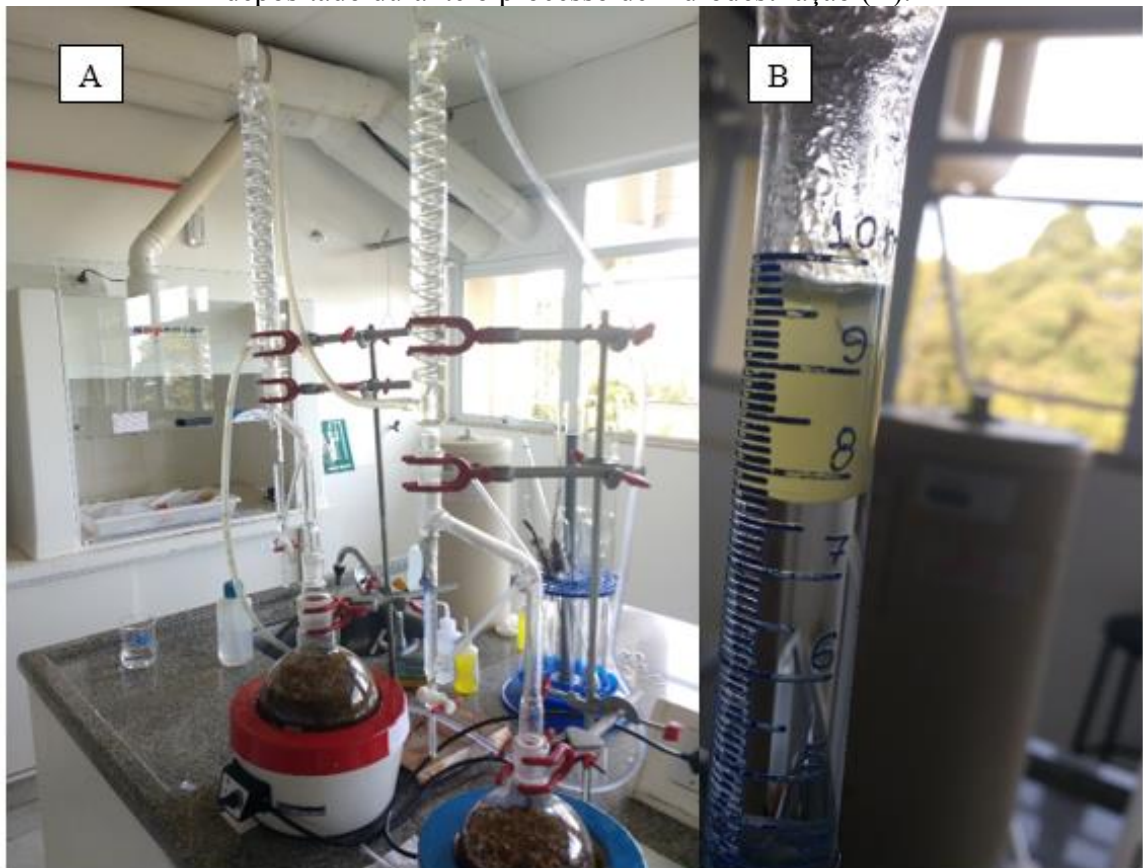
Para obtenção do óleo essencial de capim carona, foi realizado a coleta das folhas de plantas oriundas da horta de Plantas Medicinais e Aromáticas da Universidade Federal de Santa Catarina Campus de Curitibanos em junho de 2019.

O óleo essencial foi obtido no Laboratório de Química da Universidade, através da hidrodestilação em aparelho graduado Clevenger, de acordo com a metodologia de Castro *et al.* (2010) (Figura 11). Na extração utilizou-se 400 g das folhas coletadas em junho de 2019, após a coleta as folhas foram fracionadas em pedaços de 3 cm para melhor distribuição no balão volumétrico de 2 L. Após adicionar as folhas no balão volumétrico foi adicionado 1000 mL de água destilada, e em seguida colocadas sobre o aparelho de Clevenger, em temperatura máxima



de 100 °C até atingir a fervura. Após a fervura reduziu-se a temperatura para 75 °C, por um período de aproximadamente 3 horas. Ao final, o óleo essencial foi coletado com uma pipeta e armazenado em tubos de microcentrifuga protegidos da luz com papel alumínio.

Figura 11 - Aparelho de Clevenger (A); óleo de capim carona (*Elionurus muticus*) sendo depositado durante o processo de hidrodestilação (B).



Fonte: Autor, 2019.

Os óleos essenciais de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), cravo (*Syzygium aromaticum*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) foram adquiridos comercialmente através da empresa By Samia®.

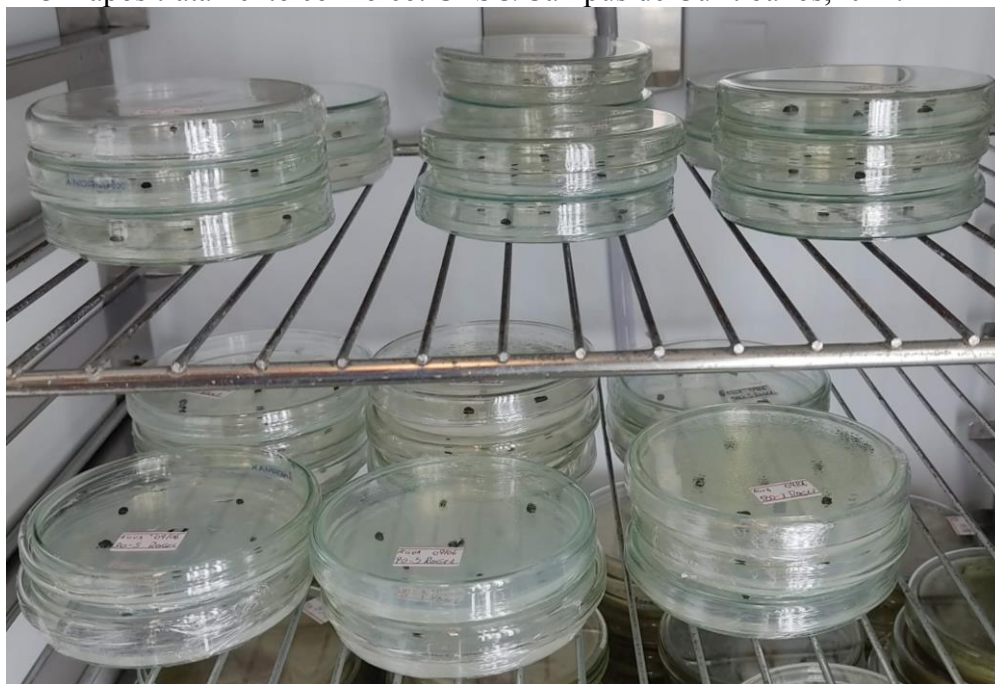
#### 4.3 AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO DOS ESCLERÓDIOS

Para avaliar a germinação dos escleródios, estes inicialmente foram desinfetados seguindo a metodologia de Punja e Rahe, 1993. Após este procedimento, 12 escleródios de *S. rolfsii* e 6 escleródios de *S. sclerotiorum*, separadamente, foram imersos em Béquere 50 mL de

água e Tween20® a 0,5%. Em seguida foi adicionado 250 microlitros dos quatro óleos essenciais correspondendo a 5000 ppm por um período de 30, 90 e 180 minutos. Para a testemunha o mesmo processo foi realizado com exceção do óleo essencial. A escolha da concentração dos óleos essenciais e os tempos de imersão foram determinados a partir de pesquisas prévias elaboradas pelo Grupo de pesquisa em Fitopatologia da Universidade Federal de Santa Catarina Campus de Curitibanos.

Após o tratamento foram dispostos em placas de Petri contendo o meio Ágar-Água (AA). As placas foram vedadas com filme plástico e incubadas em câmara de crescimento BOD a 24°C com fotoperíodo de 12 horas (Figura 12).

Figura 12 – Placas de Petri com 6 escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* acondicionadas em BOD após tratamento com óleo. UFSC/Campus de Curitibanos,2021.



Fonte: Autor, 2021.

A avaliação da germinação dos escleródios foi iniciada 24 horas após a instalação do experimento e perdurou até obter-se 100% de germinação, sendo realizada diariamente. Nessa avaliação, com auxílio de um microscópio estereoscópio, foi realizado a contagem do número de escleródios germinados, através da visualização da presença de hifas ao redor do escleródio e sobre o meio de cultura; e também contagem de escleródios não germinados, ou seja, quando na ausência de hifas.

O delineamento foi inteiramente casualizado (DIC) com em esquema fatorial com 24 tratamentos: Quatro óleos essenciais de plantas medicinais (cravo, alecrim, capim limão e capim carona) tratados com três tempos de imersão (30, 90 e 180 min.) em duas doses (0; 5000 ppm). Como testemunha (0 ppm) foi utilizada água adicionada de Tween20® a 0,5%, cada tempo de imersão. Cada placa de Petri contendo os escleródios foi considerada uma unidade experimental e 4 repetições. Os dados obtidos do experimento foram submetidos à análise de sobrevivência por meio do cálculo das curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier utilizando a função `survfit` do pacote `survival` do software estatístico R.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 OBTENÇÃO DOS FUNGOS E EXTRAÇÃO DE ÓLEO DE CAPIM CARONA

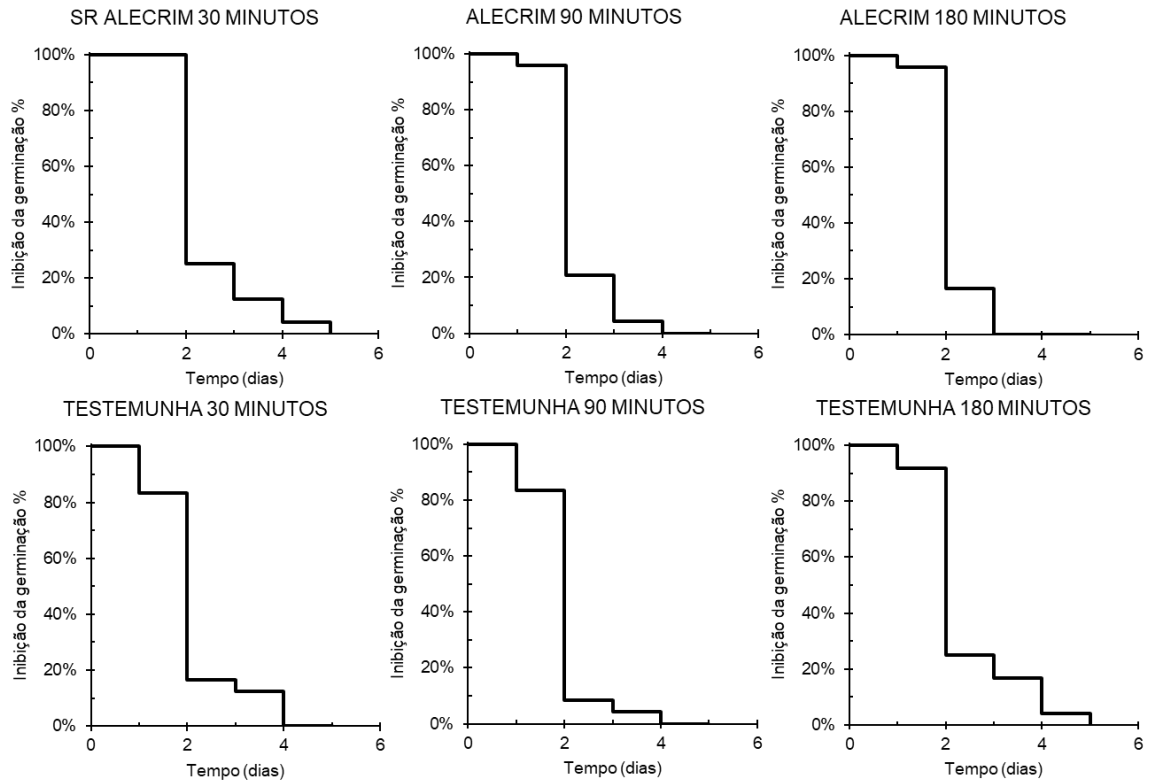
O procedimento de isolamento e desinfecção dos escleródios com álcool (70%) e hipoclorito de sódio (2%) permitiu a obtenção dos isolados e a manutenção na da micoteca do laboratório da UFSC, Campus de Curitibanos. Para tanto, o cultivo *in vitro* em placas de Petri, contendo meio BDA, permitiu a multiplicação dos micélios de *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii* e a obtenção das unidades amostrais suficientes, utilizadas na instalação do experimento.

A utilização de 400 g das folhas de capim carona (*E. muticus*), em 1000 mL de água destilada e em temperatura máxima de 100 °C, pelo método de hidrodestilação em aparelho graduado Clevenger, permitiu extrair e obtenção do óleo essencial para utilização no experimento. Ao final da extração foram obtidas 4 mL de óleo essencial, com rendimento de 1% (v/m). O rendimento foi calculado em função do volume de óleo, em mL, dividido pela massa em gramas das folhas utilizadas.

### 5.2 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE *Sclerotium rolfsii*

Na avaliação dos escleródios, em relação ao óleo essencial de alecrim, verificou-se que o tempo de exposição de 30 minutos e inibiu a germinação dos escleródios de *S. rolfsii*, em um dia, em relação à testemunha (Figura 13). Observou-se também que a germinação de 100% ocorreu apenas no quinto dia, sendo um dia de inibição a mais em relação a testemunha. O tratamento de 90 minutos de imersão apresentou resultados muito próximo a testemunha, obtendo 100% de germinação no quarto dia. No tratamento do tempo de imersão de 180 minutos os escleródios tratados com óleo alcançaram 100% de germinação dois dias antes que a testemunha, que apresentou 100% de germinação no quinto dia.

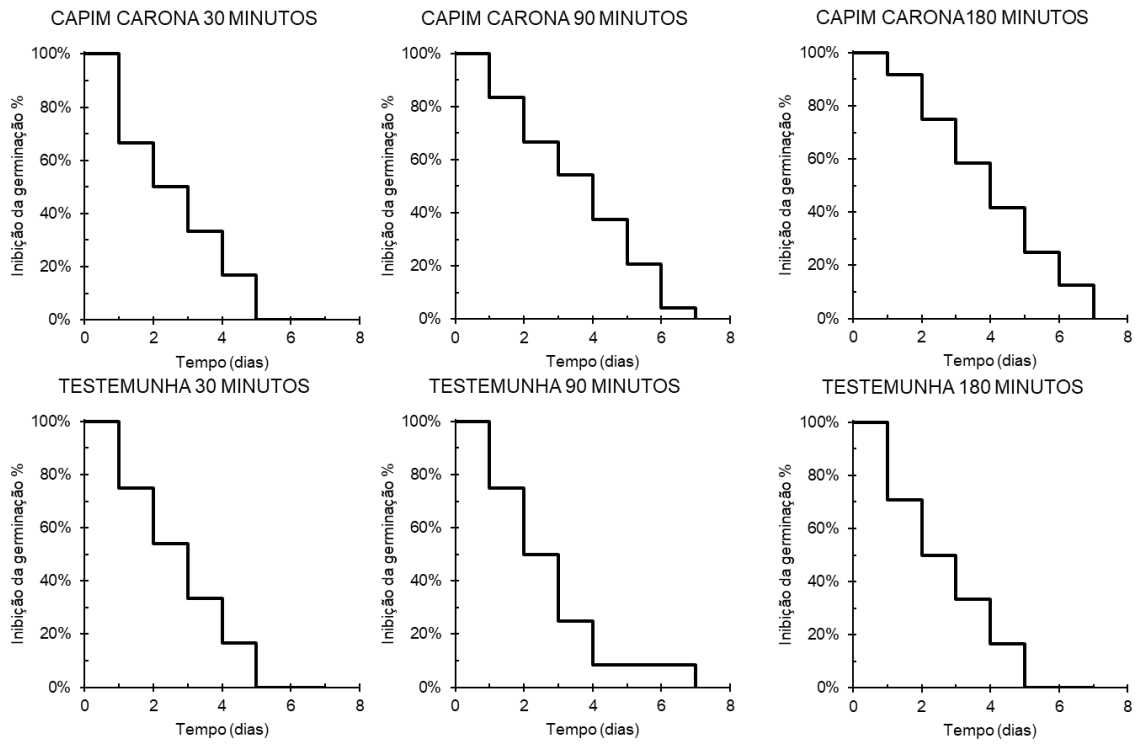
Figura 13 - Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier para a inibição da germinação (%) de escleródios do fungo *Sclerotium rolfsii* tratados ou não com óleo essencial (0 e 5000 ppm) de alecrim (*Rosmarinus officinalis*).



Fonte: Autor (2020).

No tratamento com óleo essencial de capim carona sobre os escleródios de *S. rolfsii* no tempo de imersão de 30 minutos não ocorreu diferença em relação a testemunha, sendo que no quinto dia ocorreu 100% de germinação. Em 90 minutos de imersão ocorreu uma taxa menor de germinação dos escleródios em relação a testemunha, sendo que no quinto dia ocorreu 100% de germinação. O tratamento de 180 minutos de imersão inibiu a germinação em dois dias a mais para 100% de germinação na comparação com a testemunha (Figura 14). Além disso, também ocorreu menor taxa de germinação em relação a testemunha.

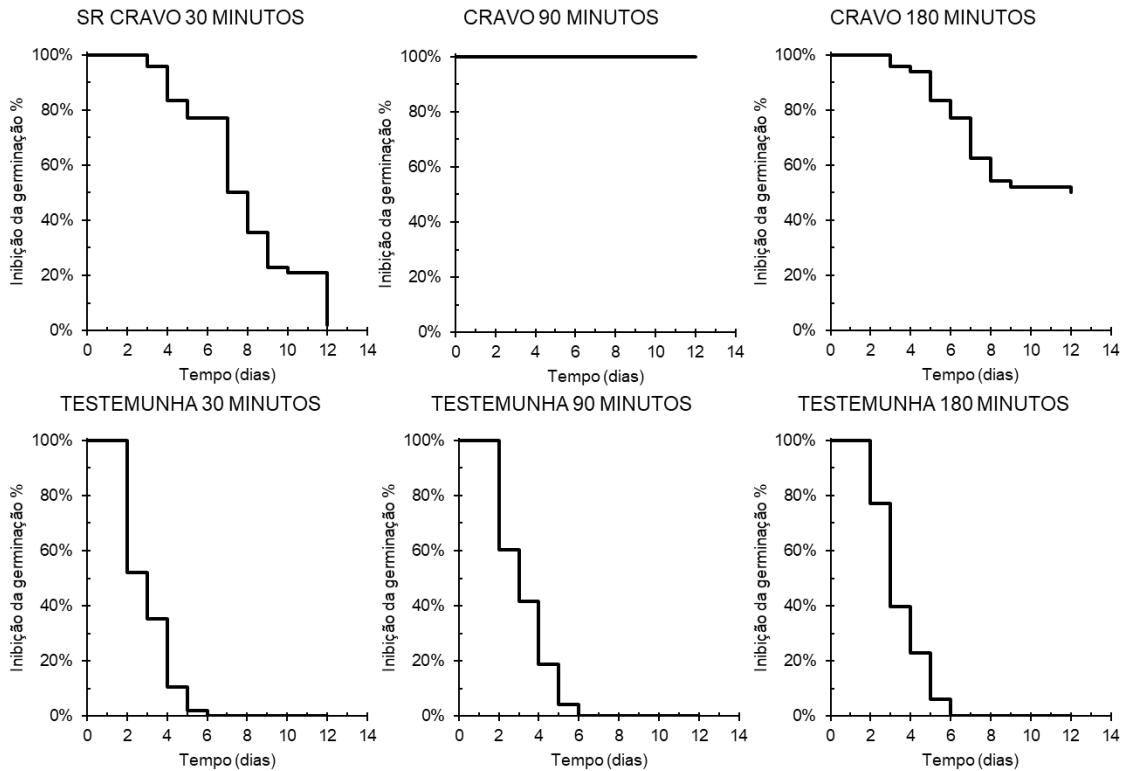
Figura 14 - Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier para a porcentagem de inibição da germinação (%) de escleródios do fungo *Sclerotium rolfii* tratados ou não com óleo essencial (0 e 5000 ppm) de capim carona (*Elionurus muticus*) .



Fonte: Autor (2020).

O tratamento com óleo essencial de cravo sobre escleródios de *S. rolfii* inibiu a germinação em todos os tempos de imersão (Figura 15). A testemunha apresentou 100% de germinação no sexto dia de avaliação. Os tratamentos de 30 e 180 minutos inibiram a germinação até o terceiro dia, e obtiveram 100% de germinação apenas no décimo segundo dia de avaliação. O tratamento de 90 minutos diferiu dos demais por inibir a germinação até o último dia de avaliação.

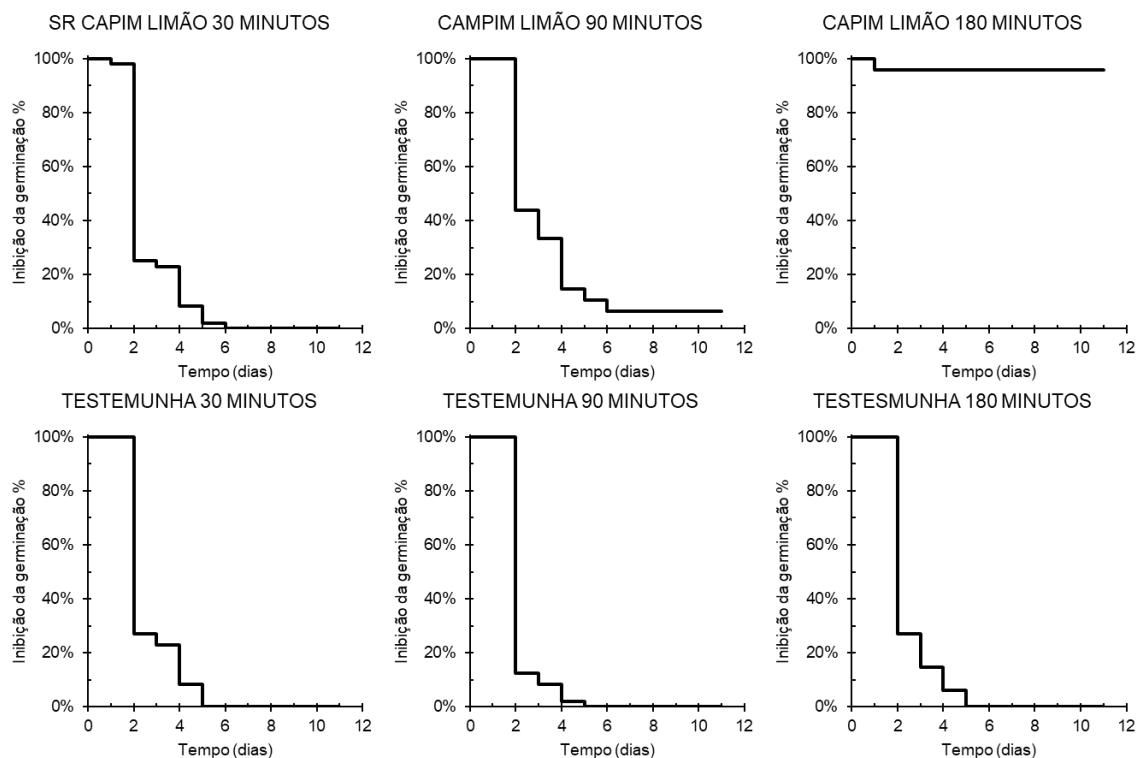
Figura 15 - Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier para a porcentagem de inibição da germinação (%) de escleródios do fungo *Sclerotium rolfsii* tratados ou não com óleo essencial (0 e 5000 ppm) de cravo (*Syzygium aromaticum*).



Fonte: Autor, 2020.

O capim limão apresentou 100% de germinação de *S. rolfsii* apenas no sexto dia de avaliação, enquanto a testemunha no quinto dia, nos tratamentos de 30 minutos (Figura 16). No tratamento de imersão por 90 minutos não houve germinação até o último dia de avaliação, enquanto que, na testemunha apresentou germinação de todos os escleródios no quinto dia. Já no tempo de imersão de 180 minutos mostrou-se mais eficiente no controle da germinação, pois houve inibição de 95% da germinação do primeiro até o último dia de avaliação, enquanto que na testemunha todos os escleródios germinaram no quinto dia.

Figura 16 - Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier para a porcentagem de inibição da germinação (%) de escleródios do fungo *Sclerotium rolfsii* tratados ou não com óleo essencial (0 e 5000 ppm) de capim limão (*Cymbopogon citratus*).



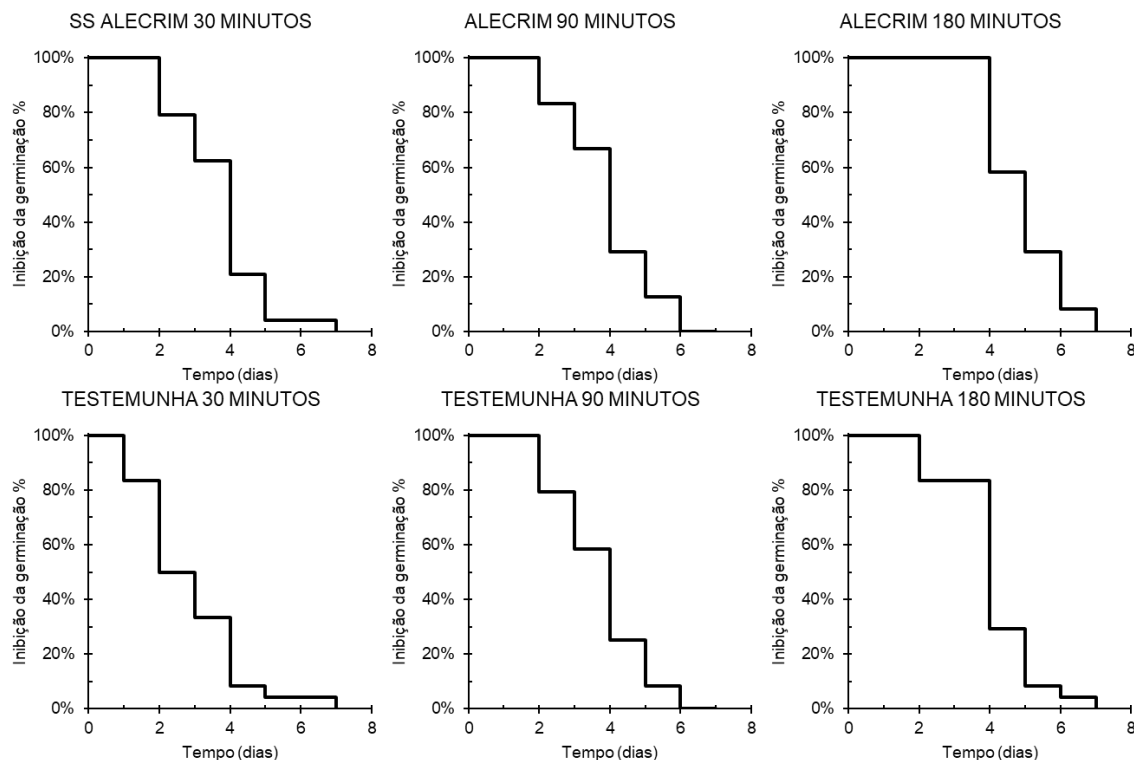
Fonte: Autor (2020).

### 5.3 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE *Sclerotinia sclerotiorum*

O tratamento de 30 minutos de imersão no óleo de alecrim mostrou atraso de um dia para iniciar a germinação em relação a testemunha (Figura 17). Quando imerso em 90 minutos os escleródios apresentaram o mesmo resultado que a testemunha. Já o tratamento de 180 minutos de imersão inibiu a germinação até o quarto dia, apresentando todos os escleródios germinados no sétimo dia.



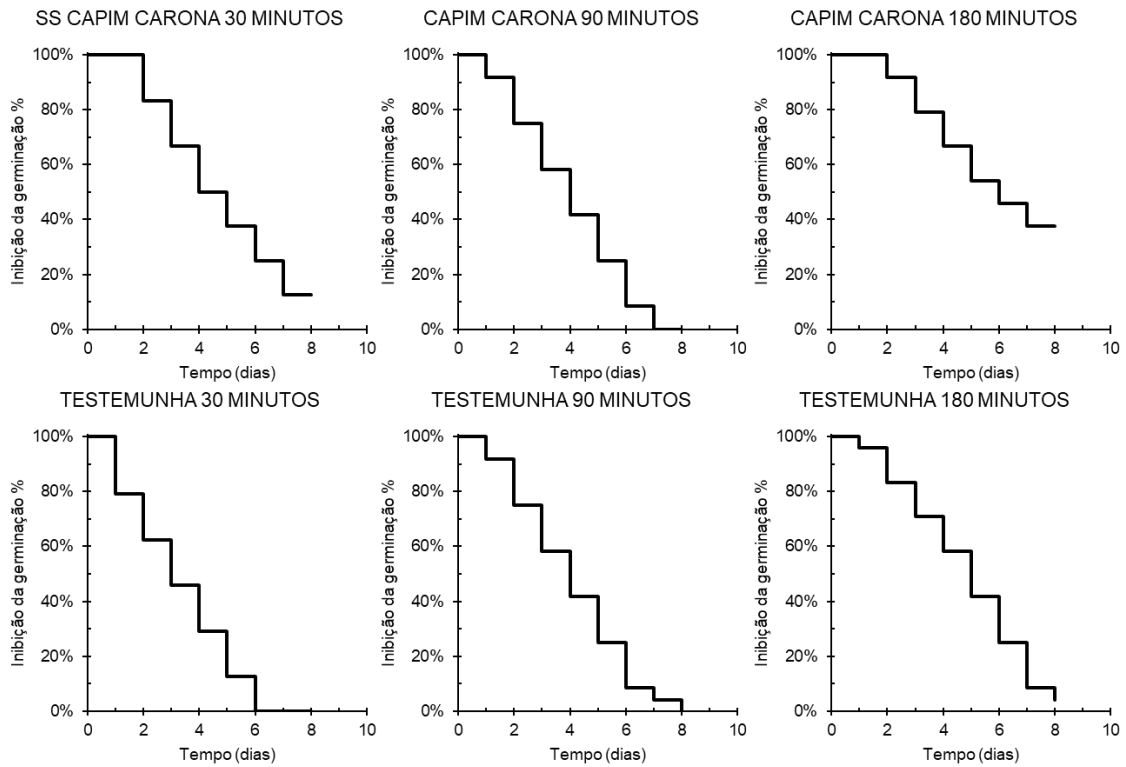
Figura 15 - Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier para a porcentagem de inibição da germinação (%) de escleródios do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* tratados ou não com óleo essencial (0 e 5000 ppm) de alecrim (*Rosmarinus officinalis*).



Fonte: Autor (2020).

O óleo essencial de capim carona sobre os escleródios de *S. sclerotiorum* no tratamento de 30 minutos de imersão, apresentou início da germinação a partir do segundo dia, sendo que 10% dos escleródios não germinaram até o final da avaliação (Figura 18). Quando tratados em 90 minutos de imersão os escleródios apresentaram resultados semelhantes a testemunha, apresentando 100% de germinação no sétimo dia, sendo um dia antes que a testemunha. No tratamento de 180 minutos de imersão ocorreu atraso de um dia para início da germinação, sendo que 35% dos escleródios não germinaram até o final da avaliação.

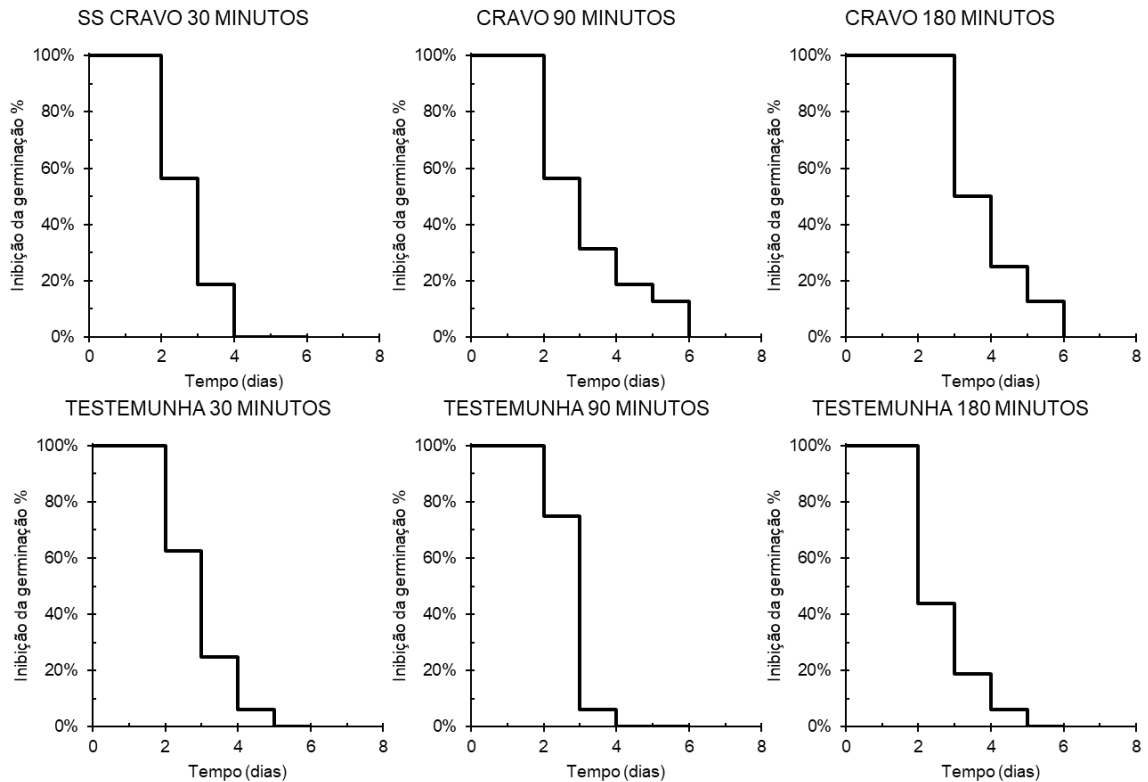
Figura 16 - Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier para a porcentagem de inibição da germinação (%) de escleródios do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* tratados ou não com óleo essencial (0 e 5000 ppm) de capim carona (*Elionurus muticus*).



Fonte: Autor (2020).

O óleo de cravo testado sobre escleródios de *S. sclerotiorum* no tratamento de 30 minutos apresentaram resultados similares a testemunha, sendo que 100% de germinação foi obtida um dia antes (quarto dia) em relação a testemunha (Figura 19). Quando imersos por 90 minutos os escleródios alcançaram 100% de germinação apenas no sexto dia. O tratamento de 180 minutos inibiu a germinação até o terceiro dia, e a germinação dos escleródios ocorrem somente no sexto dia.

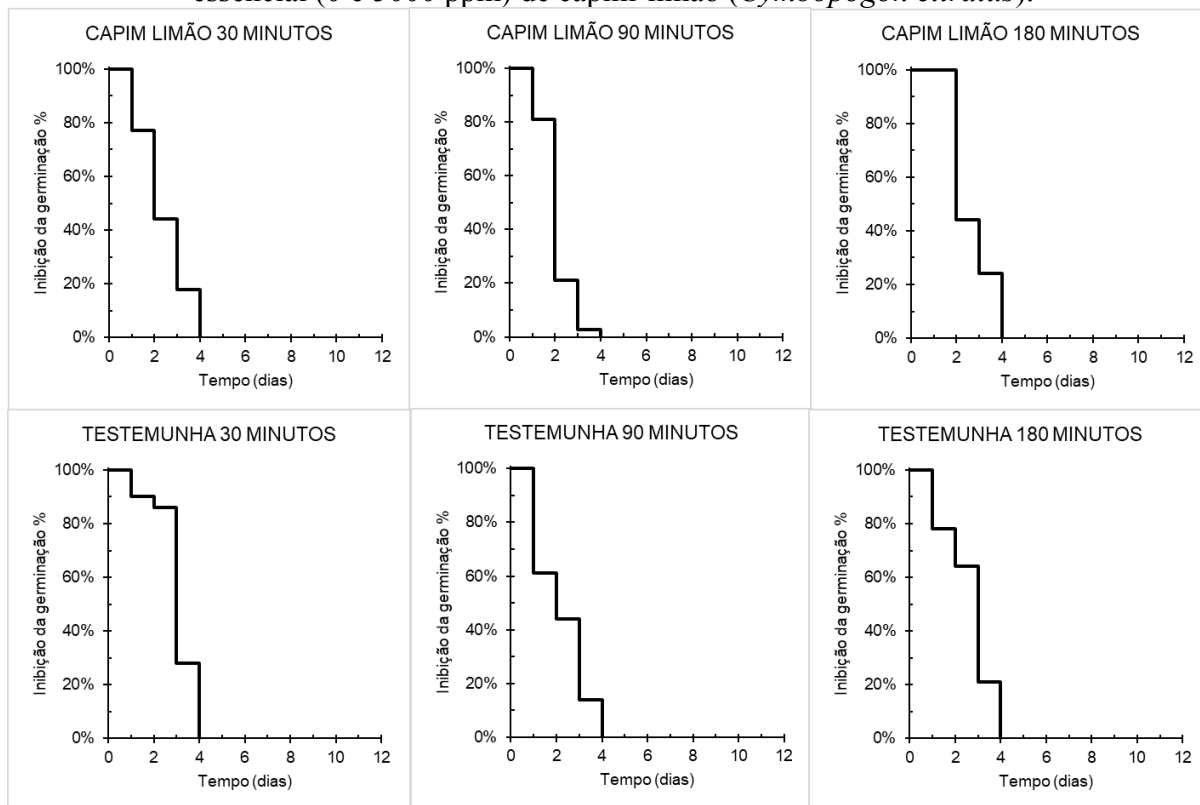
Figura 17 - Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier para a porcentagem de inibição da germinação (%) de escleródios do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* tratados ou não com óleo essencial (0 e 5000 ppm) de cravo (*Syzygium aromaticum*).



Fonte: Autor, 2020.

Testado sobre a germinação dos escleródios de *S. sclerotiorum* o óleo de capim-limão demonstrou resultados muito similares nos tratamentos de 30 e 90 minutos de imersão (Figura 20), apresentando a mesma quantidade de escleródios germinados por dia que a testemunha. Quando imerso por 180 minutos o óleo inibiu a germinação somente por um dia.

Figura 18 - Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier para a porcentagem de inibição da germinação (%) de escleródios do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* tratados ou não com óleo essencial (0 e 5000 ppm) de capim-limão (*Cymbopogon citratus*).



Fonte: Autor, 2020.

A inibição da germinação dos escleródios pelo uso dos óleos essenciais pode estar relacionada ao potencial dos componentes majoritários presentes nos óleos. O eugenol é a principal substância presente no óleo essencial de cravo, que se mostrou muito eficiente na inibição da germinação dos escleródios de *S. rolfssii* no tratamento com tempo de imersão de 90 minutos. Esse componente possui propriedades antifúngicas e hidrofóbicas, ou seja, ao ser adicionado em água não se mistura (VENTUROSO *et al.*, 2011; COSTA *et al.*, 2011).

O óleo de capim carona e de capim carona apresentaram uma taxa menor de germinação de *S. sclerotiorum*, e o óleo de capim limão apresentou bons resultados na inibição da germinação de *S. rolfssii*, esses os óleos essenciais possuem como principal substância presente o citral, provavelmente a substância responsável pelos resultados, já que possui potencial fungistático e fungicida (NASCIMENTO *et al.*, 2003), sua eficiência é mais evidente quando o tempo de imersão é maior.

Resultados semelhantes aos obtidos no presente trabalho em relação a outros fitopatógenos, foram encontrados por Ascensão e Filho, (2013). Estes autores, avaliaram a ação antifúngica do óleo essencial de cravo sobre *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* e observaram que até 100% de inibição no crescimento micelial.

Costa *et al.* (2011) encontraram atividade fungicida na concentração de 0,15 % sobre o crescimento de *R. solani*, *F. oxysporum* e *F. solani*, sendo que a avaliação microscópica dos micélios dos fungos evidenciou diversas alterações morfológicas, como a presença de vacúolos, desorganização dos conteúdos celulares, diminuição na nitidez da parede celular, intensa fragmentação e menor turgência das hifas. Isso comprova a eficiência do óleo de cravo, mostrando que sua ação fungicida ocorre pelas alterações morfológicas.

Bibiano e Sáber (2017), ao testarem o óleo essencial de capim limão sobre os fungos *Pestalotiopsis* sp. *Monilinia* sp. e *Rhizopus* spp. obtiveram inibição do crescimento dos fungos testados nas concentrações de 50% e 100% sendo que *Monilinia* sp. e *Pestalotiopsis* sp. tiveram inibição total no crescimento a partir de 35% de concentração do óleo essencial, enquanto *Rhizopus* spp. teve inibição total de crescimento com 50% e 100% de concentração do óleo essencial.

Já em relação ao potencial de óleos essenciais na inibição dos fungos *S. rolfsii* e *S. sclerotiorum*, Coser (2018), testou os óleos essenciais de capim limão e cravo na inibição da germinação e viabilidade de escleródios do fungo *S. rolfsii*, onde o óleo de cravo nas doses de 2000, 3000 e 5000 ppm e de capim limão na dose de 5000 ppm mostraram eficiência na inibição da germinação, inibindo a germinação até o quadragésimo dia de avaliação.

Fonseca *et al.*, (2015), ao estudarem os óleos de aroeirinha, arnica-brasileira e alecrim. Verificaram que o óleo essencial de alecrim foi o mais eficiente na redução do crescimento micelial dos fungos *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, *F. solani* f. sp. *phaseoli*, *S. sclerotiorum*, *S. minor*, *Rhizoctonia solani* e *S. rolfsii*, reduzindo a crescimento micelial e inibindo completamente a germinação quando se utilizou 3000 ppm. O óleo de aroeirinha reduziu em 72% o crescimento micelial de *S. rolfsii* já o óleo de arnica-brasileirinha foi eficiente no controle de *S. sclerotiorum* reduzindo em 72% o crescimento micelial.

Siega *et al.* (2020) avaliaram o efeito do óleo essencial de 17 espécies na germinação carpogênica e miceliogênica de *S. sclerotiorum*. Entre as espécies testadas estão o capim-limão e cravo. Para a avaliação da germinação miceliogênica foi adicionado 15 uL dos óleos essenciais em papel filtro fixado na tampa superior da placa de Petri. Nas placas foram

adicionados 5 escleródios, sendo feitas avaliações às 14, 48, 72 e 96 horas após início da incubação feito em BOD. A pesquisa mostra que alguns óleos tiveram efeito no atraso para início da germinação e não em sua inibição, como o óleo de árvore do chá (*Melaleuca alternifolia*) e pitanga (*Eugenia uniflora*), que atrasaram a germinação até 48 horas. Já o óleo de cravo inibiu a germinação por 72 horas, enquanto o óleo de capim-limão ficou entre os óleos mais eficientes, inibindo a germinação por até 96 horas, o mesmo óleo também foi muito eficiente na inibição da germinação carpogênica, junto ao óleo de cravo.

Algumas diferenças nos resultados obtidos com os que constam na literatura podem estar relacionadas em relação a composição química pois pode ocorrer variações em uma mesma planta devido a fatores ligados à biologia (genética, nutrição e fase de desenvolvimento), além de outros fatores (local, condições climáticas e tipo de solo) (FULLER, 2013; PUPPIN, 2018). Levando em consideração que os experimentos foram conduzidos com óleos essenciais adquiridos comercialmente (exceto o óleo de *E. muticus*) através da empresa By Samia<sup>®</sup>, os óleos podem ter sido extraídos em diferentes épocas do ano, com plantas de diferentes idades e regiões, e diferentes partes da planta, além disso fatores como forma e tempo de armazenamento pode ter afetado o desempenho dos óleos essenciais testados. A forma de envasamento dos óleos também afeta a composição química, visto que pode ocorrer foto degradação das moléculas bioativas.

Enfim, diante dos resultados obtidos, fica claro o potencial dos óleos essenciais de capim limão e cravo podem ter ao inibir a germinação de *S. rolfsii* e também da necessidade da continuidade de trabalhos utilizando óleos essenciais. Mais ensaios devem ser realizados para que sejam alcançados melhores resultados, e que assim possa se estabelecer quais as melhores condições para obtenção dos óleos, de acordo com cada espécie.

O óleo de capim carona, mostrou-se com potencialidade para inibir parcialmente a germinação de escleródios de *S. sclerotiorum*. No entanto, ainda são poucos os trabalhos que mostram o uso desta espécie para o controle de fungos fitopatogênicos, por se tratar de uma espécie nativa e apresentar grande diversidade no Brasil mais estudos devem ser realizados com esta planta.

## CONCLUSÃO

O procedimento de isolamento e o cultivo *in vitro* permitiu a multiplicação dos micélios de *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii* para serem utilizados nos experimentos.

O processo de hidrodestilação com aparelho de Clevenger permitiu extrair e obter o óleo essencial a partir das folhas de capim carona (*E. muticus*) para ser utilizado no experimento.

Os óleos essenciais de capim limão e cravo mostraram resultados promissores na inibição da germinação dos escleródios de *S. rolfsii* nos tempos de imersão de 180 minutos e 90 minutos, respectivamente.

O óleo de capim carona mostrou potencial de inibir a germinação de *S. sclerotiorum* em 180 minutos de imersão, sendo assim mais estudos se fazem necessários para explorar seu potencial fungitóxico.

## REFERÊNCIAS

- ABAWI, G. S.; GROGAN, R. G. Source of primary inoculum and effects of temperature and moisture on infection of beans by *Whetzelinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, St Paul, v. 65, n. 3, p.300-309, 1975.
- ASCENÇÃO, V. L.; FILHO, V. E. M. Extração, caracterização química e atividade antifúngica de óleo essencial *Syzygium aromaticum* (Cravo da Índia). **Caderno de Pesquisa de São Luís**, São Luís, v. 0, n. 20, p. 1-8, Jul, 2013.
- ACHIEME, L. *et al.* Produção de escleródios de *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum* em algodão hidrofílico e papel de filtro. Brasília, DF. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Dez. 2009. (Comunicado Técnico 194).
- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5ª edição. Burlington, Elsevier Academic Press, 2005.
- AGROFIT. Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em [http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em 25/07/2021.
- AFFONSO, R. da S.; RENNÓ, M. N.; SLANA, G. B. C. A.; FRANCA, T. C. Chemical and Biological aspects of the essential oil of Indian Cloves. **Revista Virtual de Química**, [S.L.], v. 4, n. 2, p. 146-161, abr. 2012. <http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20120012>.
- BIBIANO, H. da S.; SÁBER, M. L. Extratos *Cymbopogon citratus* e *Annona muricata* como inibidores do crescimento micelial de fungos fitopatogênicos. **Revista Agrogeoambiental**, Pouso Alegre, v. 9, n. 2, p. 1-11, 27 jul. 2017. <http://dx.doi.org/10.18406/2316-1817v9n22017978>.
- BOLTON, M. D.; THOMMA, B. P. H. J.; NELSON, B. D. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 1-16, jan. 2006.
- BOMFIM, N. da S. *et al.* Antifungal and antiaflatoxigenic activity of rosemary essential oil (*Rosmarinus officinalis* L.) against *Aspergillus flavus*. **Food Additives & Contaminants: Part A**, [S.L.], v. 37, n. 1, p. 153-161, 23 out. 2019.
- BRUM, R. B. C. S. *et al.* Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre fungos fitopatogênicos. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 26, n. 3, p. 361-371, jun. 2014.
- CASTRO, H. G.; PERINI, V. B. M.; SANTOS, G. R.; LEAL, T. C. A. B. Avaliação do teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.) em diferentes épocas de colheita. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 41, n. 2 p. 308-314, 2010.
- COSTA, A.R.T *et al.* Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n. 2, p. 240-245, abr. 2011. UNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-05722011000200018>.



COSER, E. **Potencial de óleos essenciais no controle do fungo *Sclerotium rolfsii* in vitro e em plantas de tomate**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) -, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2018.

DEACON, J.W. **Modern Mycology**. 3. ed. Cambridge: Blackwell Science, 1997. 303 p.

DILANTHA, F. W. G.; NAKKEERAN, S.; ZHANG, Y. Ecofriendly methods in combating *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. **Research Signpost**, Kerala, India, v. 37, n. 2, p. 330-347, jan. 2004.

EMBRAPA. **Manual de Segurança e Qualidade para a Cultura do Milho**: qualidade e segurança dos alimentos. Brasília, DF: Embrapa, 2004. 80 p.

ERENTAL, A.; DICKMAN, E B; YARDEN, O. Sclerotial development in *Sclerotinia sclerotiorum*: awakening molecular analysis of a “Dormant” structure. **Fungal Biology Reviews**. [S.I.], v. 22, n.1, p. 6-16. fev. 2008.

UEMURA flores e plantas, 2021. Disponível em: [www.uemurafloreseplantas.com.br](http://www.uemurafloreseplantas.com.br). Acesso em: 8 de Set. de 2021.

FONSECA, M.C.M. *et al.* Potencial de óleos essenciais de plantas medicinais no controle de fitopatógenos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 45-50, mar. 2015.

FONTANA, D. C. *et al.* Fungicidal potential of essential oils in control of *Fusarium* spp. and *Sclerotinia sclerotiorum*. **Arquivos do Instituto Biológico**, [S.L.], v. 87, n. 1, p. 1-10, jun. 2020.

FULLER, T. N. **Caracterização genética e química e atividade biológica do óleo essencial de populações naturais de *Elionurus muticus* HUM & BOMPL EX WILLD**. 2013. 125 f. Tese (Doutor em Fitotecnia) - Curso de Fitotecnia Ênfase Melhoramento e Biotecnologia Vegetal, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

GLOBO. **Revista globo rural**, 2013. Disponível em: <https://revistagloborural.globo.com/vida-na-fazenda/como-plantar/noticia/2013/12/como-plantar-capim-limao.html>. Acesso em: 8 de Set. 2021.

HANAA, A.R. M.; SALLAM, Y.I.; EL-LEITHY, A. S.; ALY, S E. Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil as affected by drying methods. **Annals Of Agricultural Sciences**, [S.L.], v. 57, n. 2, p. 113-116, dez. 2012.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.aos.2012.08.004>

UFSC. Horto didático, 2021. Disponível em: <https://hortodidatico.ufsc.br/capim-cidreira-fino/>. Acesso em: 8 de set. 2021.

VIEIRA, B. de A. H.; NECHET, K. de L.; PEREIRA, P. R. V. da S. **Ocorrência de *Sclerotium rolfsii* em condições de cultivo protegido na cidade de Boa Vista, Roraima e recomendações de controle**. 4. ed. Boa Vista, PR: Embrapa, 2003. 7 p.

JACCOUD, D. de S. F.; NASSER, L. C. B.; HENNEBERG, L.; GRABICOSKI, E. M. G.; JULIATTI, F. C. Mofo Branco: introdução, histórico, situação atual e perspectivas. In: JACCOUD, D. de S. F.; HENNEBERG, L.; GRABICOSKI, E. M. G. **Mofo branco: *Sclerotinia sclerotiorum***. Ponta Grossa: Toda Palavra Editora, 2017. p. 29-76.

JULIATTI, F. C *et al.* *Sclerotinia sclerotiorum* e mofo branco: estudos básicos e aplicados. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Brasília, DF, v. 23, p. 159-194, 2015.

JUNOIR, A. L. G. **Uso de Óleos Essenciais no Controle do Fungo *Sclerotinia sclerotiorum***. 2018. 42 f. TCC (Graduação) - Curso de Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2018.

KIMATI, H.; AMORIN, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4.ed. São Paulo: Ceres, 2005. v.2, Cap. 16, p.119-142.

KREYCI, P. F.; GLÓRIA, E. M. da; IKEDA, N. Y. Atividade de óleos essenciais na inibição do crescimento micelial in vitro de *Sclerotinia sclerotiorum*. In: Congresso Paulista de fitopatologia, 2018, Marília. Marília: **Summa Phytopathologica**, 2018. p. 1-6.

LUTTRELL, E. S.. Parasitism of Fungi on Vascular Plants. **Mycologia**, [S.I.], v. 66, n. 1, p. 1, jan. 1974. <http://dx.doi.org/10.2307/3758447>.

MACENA, A. M. F.; CANTERI, M. G.; FERREIRA, J. J. P. Espaçamento e manejo de restos culturais para o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em feijoeiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 11, p. 1-3, nov. 2011.

MARCHIORI, V. F. *Rosmarinus officinalis*. **Fundação Herbarium**: Associação Argentina de Fitomedicina, Argentina, p. 32. jun. 2004.  
(MARCHIORI, 2004)

MARCUZZO, L. L.; SCHULLER, A. Sobrevivência e viabilidade de escleródios de *Sclerotium rolfsii* no solo. **Summa Phytopathologica**, [S.L.], v. 40, n. 3, p. 281-283, set. 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-5405/1951>.

MEYER, M. C. *et al.* **Experimentos cooperativos de controle biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja: resultados sumarizados da safra 2019/2020**. 163. ed. Londrina-PR: Embrapa, 2020. 20 p.

MEYER, M. C. *et al.* **Eficiência de fungicidas para controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2018/19: resultados sumarizados dos experimentos cooperativos**. 152. ed. Londrina-PR: Embrapa, 2019. 6 p.

MILA, A. L.; YANG, X. B. Effects of Fluctuating Soil Temperature and Water Potential on Sclerotia Germination and Apophycial Production of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, v. 92, n. 1, 2008. 78-82 p.

MUNDO CEREALISTA, 2020. Disponível em: <https://www.mundocerealista.com.br/>. Acesso em: 8 de Set. 2021.

NASCIMENTO, I.B. do; INNECCO, R.; MARCO, C.A.; MATTOS, S.H.; NAGAO, E.O. Efeito do horário de corte no óleo essencial de capim-santo. **Revista Ciência Agronômica**, v.34, n.2, p.169- 172, 2003.

PAWAR, V. C.; THAKER, V. S. *In vitro* efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus niger*. *Mycoses*, [S.L.], v. 49, n. 4, p. 316-323, jul. 2006. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0507.2006.01241.x>.

PEREIRA, Faber de Souza *et al.* ESTRATÉGIAS DE CONTROLE DE MOFO BRANCO DO FEIJOEIRO. **Enciclopédia Biosfera: Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v. 9, n. 17, p. 1354-1362, jun. 2013.

PINTO, Z. T. *et al.* Chemical composition and insecticidal activity of *Cymbopogon citratus* essential oil from Cuba and Brazil against housefly. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 24, n. 1, p. 36-44, mar. 2015.

PORTE, A.; GODOY, R. L. de O. Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.): propriedades antimicrobiana e química do óleo essencial. **B.Ceppa**, Curitiba, v. 19, n. 2, p. 193-210, dez. 2001.

PUNJA, Z. K. The biology, ecology and control of *S. rolfsii*. **Annual Review of Phytopathology**, v.23, p.97-127, 1985.

PUNJA, Z.K.; RAHE, J.E. *Sclerotium*. In: SINGLETON, L.L; MIHAIL, J.D; RUSH, C.M. (Ed.) **Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi**. St. Paul, Minnesota, 1993. p.166 -170.

QUEIROZ, T. N.; PASCUALI, L. C.; SILVA, A. C. do P.; PORTO, A. G.; CARVALHO, J. W. P. Extratos e óleos essenciais como alternativa no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii* isolados de soja (*Glycine max* L.). **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, Maringá, v. 13, n. 2, p. 737-753, jun. 2020.

SATYAL, P. *et al.* Caracterização quimiotípica e atividade biológica de *Rosmarinus officinalis*. **Mdpi: alimentos**, [S.I.], v. 20, n. 6, p. 1-15, mar. 2017.

SIEGA, T. de C. *et al.* Controle da germinação miceliogênica e carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary com óleos essenciais provenientes de 17 espécies vegetais. **Research, Society And Development**, [S.I.], v. 9, n. 12, p. 1-18, 15 dez. 2020. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i12.10844>.

TAJIDIN N. E.; ROSENANI, B. A.; AZIMAH, H.; MUNIRAH, M. Chemical composition and citral content in lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil at three maturity stages. **African Journal Of Biotechnology**, [S.L.], v. 11, n. 11, p. 2685-2693, 7 fev. 2012. <http://dx.doi.org/10.5897/ajb11.2939>

TELES, A. M. *et al.* GC-MS Characterization of Antibacterial, Antioxidant, and Antitrypanosomal Activity of *Syzygium aromaticum* Essential Oil and Eugenol. **Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine**, [S.L.], v. 2021, n. 1, p. 1-12, 20 fev. 2021.

VENTUROSOS, L. dos R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; VENTUROSOS, L. A. C.; PONTIM, B. C. A.; REIS, G. F. dos. Inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de oleaginosas: transmissão e seus efeitos sobre a emergência de plantas. **Ciência Rural**, [S.L.], v. 45, n. 5, p. 788-793, mai. 2015.

VENTUROSOS, L.R. *et al.* Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v. 37, n. 1, p. 18-23, mar. 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-54052011000100003>.

VIGGA. **Omex**, 2020. Disponível em: <https://omex.com.br/linhas-de-produto/vigga/>. Acesso em: 15/08/2021.

WEINDLING, R. *Trichoderma lignorum* as a Parasite of Other Soil Fungi. **Phytopathology**, 22, 837-845. 1932.