

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS DE CURITIBANOS
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
GABRIELA CAROLINA DOS SANTOS

**EXTRATOS E ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS MEDICINAIS NO CONTROLE
DO FUNGO *Sclerotium rolfsii* NA CULTURA DO TOMATE**

Curitibanos
2016

GABRIELA CAROLINA DOS SANTOS

**EXTRATOS E ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS MEDICINAIS NO CONTROLE
DO FUNGO *Sclerotium rolfsii* NA CULTURA DO TOMATE**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Agronomia, do Campus de Curitiba da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Terumi Itako

Curitiba
2016

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

Santos, Gabriela Carolina dos
Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais no
controle do fungo *Sclerotium rolfsii* na cultura do tomate
/ Gabriela Carolina dos Santos ; orientadora, Adriana
Terumi Itako - Curitibanos, SC, 2016.
35 p.

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

Inclui referências

1. Agronomia. 2. Fitopatologia. 3. Controle
Alternativo. 4. Fungo *Sclerotium rolfsii*. 5. Plantas
medicinais. 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) 3721-2178 E-mail: agronomia.cbs@contato.ufsc.br.

GABRIELA CAROLINA DOS SANTOS

EXTRATOS E ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS MEDICINAIS NO CONTROLE DO FUNGO *Sclerotium rolfsii* NA CULTURA DO TOMATE

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado ao Colegiado do Curso de Agronomia, do Campus de Curitibanos da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientador(a): Adriana Terumi Itako

Data da defesa: 16/11/2016

MEMBROS COMPONENTES DA BANCA EXAMINADORA:

Presidente e Orientador: Adriana Terumi Itako
Titulação: Doutora
Área de concentração em Fitopatologia
Universidade Federal de Santa Catarina

Adriana Terumi Itako

Membro Titular: Leosane Cristina Bosco
Titulação: Doutora
Área de concentração em Agrometeorologia
Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina

Leosane Cristina Bosco

Membro Titular: Júlia Carina Niemeyer
Titulação: Doutora
Área de concentração em Ecotoxicologia
Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina

Júlia C. Niemeyer

Local: Universidade Federal de Santa Catarina
Campus de Curitibanos
Coordenação do Curso de Graduação em Agronomia

Santos

Dedico esse trabalho a minha família que sempre esteve presente me incentivando e apoiando em todos os processos de minha vida.

Aos meus amigos pelo apoio incondicional.

Aos professores pelo simples fato de estarem dispostos a ensinar.

A minha orientadora pela paciência demonstrada no decorrer do trabalho.

AGRADECIMENTOS

Meu primeiro agradecimento é a Deus, que me deu a oportunidade de viver e conquistar tudo que tenho.

Aos meus pais Maria Elena dos Santos e Benedito José dos Santos, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

Agradeço aos meus irmãos, Gustavo Henrique dos Santos, Tamires Mariane dos Santos e Kaio Augusto dos Santos que por mais difícil que fossem as circunstâncias, sempre tiveram paciência e confiança.

Agradeço à minha orientadora Profa. Dra. Adriana Terumi Itako por ter me recebido e sempre me mostrado o caminho correto a ser seguido, de forma única, admirável e exemplar.

Ao Prof. Dr. João Batista Tolentino Jr, que se disponibilizou em todas as etapas de desse trabalho.

A todos os meus amigos da vida e colegas do curso de agronomia, que de alguma maneira tornam minha vida acadêmica cada dia mais desafiante. Peço a Deus que os abençoe grandemente, preenchendo seus caminhos com muita paz, amor, saúde e prosperidade.

Aos Professores e funcionários que estiveram presentes durante minha graduação no curso de Agronomia na Universidade Federal de Santa Catarina, Campus de Curitibanos.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

RESUMO

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é uma cultura com alto índice de doenças, dentre estas o mofo branco causado pelo fungo *Sclerotium rolfsii*. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito dos extratos e óleos essenciais extraídos de plantas de alho (*Allium sativum*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*) no desenvolvimento *in vitro* e *in vivo* do fungo *S. rolfsii*. O extrato bruto aquoso foi obtido partir da trituração em água de folhas verdes de alecrim e bulbilhos de alho. O extrato foi filtrado, diluído nas doses de 0, 5, 10, 15, 20 e 30%, incorporados em BDA, autoclavados e distribuídos em placas de Petri. Para avaliação *in vitro* com óleo essencial foram utilizadas concentrações crescentes de 0, 50, 100, 250, 500 e 1000 ppm do óleo essencial de alho e 0, 250, 500, 1000 e 2000 ppm do óleo essencial de alecrim. Alíquotas dos óleos foram adicionadas em meio de cultura BDA fundente e além do óleo foi adicionado antibiótico *Streptomincina* e *Penicillina* 500 mg/L⁻¹ e Tween 20® a 0,5 %. Após a solidificação dos meios, um disco de micélio do fungo foi repicado para o centro de cada placa, vedadas e incubadas em câmara de crescimento (25°C e fotoperíodo de 12 h). A avaliação iniciou-se 24 h após a instalação do experimento. O delineamento foi inteiramente ao acaso com 5 repetições. A avaliação da incidência do fungo foi realizada em mudas de tomate cv. Gaúcho as quais estas receberam tratamento do extrato de alho e alecrim a 30%, óleo essencial de alecrim a 2000 ppm, óleo de alho a 100 e 1000 ppm, fungicida químico Fluazinam e água. Os tratamentos foram realizados 24 h antes e 24 h após a inoculação do fungo e as avaliações 24 e 48 h após os tratamentos. O extrato bruto de alho inibiu o crescimento micelial do *S. rolfsii* a partir da concentração 15%, e diminuiu a velocidade de crescimento do fungo. O extrato de alecrim não demonstrou efeito fungitóxico sobre o *S. rolfsii*. Os óleos essenciais de alho e alecrim inibiram o crescimento do fungo a partir da dose 100 ppm e 2000 ppm, respectivamente. Apesar de observado o efeito inibitório do extrato bruto e óleos das plantas em condições *in vitro*, em condições de campo o resultado não foi promissor, sendo necessário um maior estudo sobre a dose e método de aplicação dos tratamentos na condição *in vivo*. Além disso o *S. rolfsii* foi inoculado na plântula com a presença de escleródios o que pode ter interferido na sua agressividade.

Palavras-chave: *Solanum lycopersicum*. *Allium sativum*. *Rosmarinus officinalis*.

ABSTRACT

Tomato (*Solanum lycopersicum L.*) is a crop with high diseases rates, among them the fungus *Sclerotium rolfsii*, causer white mold is very important. The objective was evaluated the effect of extracts and essential oils extracted from garlic (*A. sativum*) and rosemary (*R. officinalis*) plants *in vitro* and *in vivo* on development of *S. rolfsii* fungus. The crude aqueous extract was obtained from green leaves of rosemary and garlic bulbs in water trituration. The extract was filtered, diluted in doses of 0, 5, 10, 15, 20 and 30%, incorporated in BDA, autoclaved and distributed in Petri dishes. For essential oil *in vitro* evaluation, was used increasing concentrations of 0, 50, 100, 250, 500 and 1000 ppm of essential garlic oil, and 0, 250, 500, 1000 and 2000 ppm of rosemary essential oil. Aliquot of oils was added in fondant BDA culture medium, besides oil, was added antibiotic (*Streptomincina e Penicillina*) 500 mg/L⁻¹ and Tween 20® in 0.5%. After means solidification, a fungus mycelium disk was peaked to the center of each plate, sealed and incubated in a growth chamber (25° C and 12 h photoperiod). The evaluation initiated 24 hours after experiment installation. The design was completely random with five repetitions. The evaluation of fungus incidence was performed on tomato seedlings cv. Gaucho, treated with garlic and rosemary extract 30%, rosemary essential oil 2000 ppm, garlic oil 100 and 1000 ppm and Fluazinam chemical fungicide. The treatments were performed 24 h before and 24 h after fungus inoculation and ratings 24 and 48 h after treatment. The crude extract of garlic inhibited the mycelial growth of *S. rolfsii* from the 15% concentration, and decreased the fungal growth rate. Besides rosemary extract not demonstrated fungitoxic effect on *S. rolfsii*. The essential oils of garlic and rosemary inhibited the fungus from 100 ppm and 2000 ppm dose, respectively. Even the effect of the crude extract and plant oils *in vitro* conditions, in field conditions the results it wasn't promising, a larger study of dose and treatment methods of application *in vivo* conditions is necessary, besides that *S. rolfsii* was inoculated in seedlings with sclerotia presence that can interfered with their aggressiveness.

Key words: *Solanum lycopersicum*. *Allium sativum*. *Rosmarinus officinalis*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Micélio e formação dos escleródios do fungo <i>S. rolfsii</i>	15
Figura 2 - Produção em placas de Petri de inóculo de <i>S. rolfsii</i> em arroz autoclavado (A). Infestação do inóculo na base do colo da planta de tomate (B).	21
Figura 3 - Área abaixo da curva do crescimento micelial (AACCM) de <i>S. rolfsii</i> para o Extrato Bruto de alho (A) e para o Extrato Bruto de alecrim (B).	23
Figura 4 - Índice de velocidade crescimento micelial (IVCM) do fungo <i>S. rolfsii</i> avaliados sob o desenvolvimento nos Extrato Bruto de alho (A) e para o Extrato Bruto de alecrim (B).24	
Figura 5 - Vasos com plântulas de tomate após inoculação e tratamento com fungicida, alho, alecrim e água, da esquerda para direita.....	25
Figura 6 - Crescimento micelial <i>S. rolfsii</i> em óleo essencial de alecrim nas doses de 0, 250, 500, 1000 e 2000 ppm	26
Figura 7 - Crescimento micelial <i>S. rolfsii</i> em óleo essencial de alho nas doses de 0, 50, 100, 250, 500 e 1000 ppm	26
Figura 8 - Vasos com plântulas de tomate após inoculação e tratamento com água, fungicida, alho 100 ppm, alho 1000 ppm e alecrim 2000 ppm da esquerda para a direita	28
Figura 9 - Vasos com plântulas de tomate no dia da inoculação (A) e 24h após os tratamentos com água (B), fungicida (C), alho 100 ppm (D), alho 1000 ppm (E) e alecrim 2000 ppm (F).28	

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Resultados da avaliação da incidência do mofo branco em plântulas de tomate tratadas com água, fungicida, extrato de alho 30% e extrato de alecrim 30 % 25
- Tabela 2** – Resultados da avaliação da incidência do *S. rolfsii* em meio de cultura BDA sem óleo essencial e com óleo essencial de alecrim nas doses 0, 250, 500, 1000 e 2000 ppm..... 26
- Tabela 3** – Resultados da avaliação da incidência do *S. rolfsii* em meio de cultura BDA sem óleo essencial e com óleo essencial de alho nas doses 0, 50, 100, 250, 500 e 1000 ppm 27
- Tabela 4** – Resultados da avaliação da incidência do mofo branco em plântulas de tomate tratadas com água, fungicida, óleo essencial de alho 100 e 1000 ppm e óleo essencial de alecrim 2000 ppm 29

LISTA DE SIGLAS

AACCM	Área Abaixo da Curva de Crescimento Micelial
BDA	Batata Dextrose Ágar
BOD	Câmara de Crescimento
DIC	Delineamento Inteiramente Casualizado
IVCM	Índice de Velocidade de Crescimento Micelial

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 CULTURA DO TOMATE.....	14
2.2 MOFO BRANCO	14
2.2.1 Descrição do patógeno.....	16
2.3 CONTROLE DO MOFO BRANCO.....	16
2.3.1 Controle alternativo	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 LOCAL DO EXPERIMENTO E OBTENÇÃO DO FUNGO <i>Sclerotium rolfsii</i>	19
3.2 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO BRUTO E ÓLEO ESSENCIAL SOBRE O FUNGO <i>Sclerotium rolfsii</i>	19
3.3 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATO BRUTO SOBRE O MOFO BRANCO <i>in vivo</i> EM PLÂNTULAS DE TOMATE.....	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1 EXTRATO BRUTO	23
4.1.1 Avaliação do crescimento micelial	23
4.1.2 Avaliação da incidência do mofo branco em plântulas de tomate	24
4.2 ÓLEO ESSENCIAL	25
4.2.1 Avaliação do crescimento micelial	25
4.2.2 Avaliação da incidência do mofo branco em plântulas de tomate	27
5 CONCLUSÃO.....	30
REFERÊNCIAS	30

1 INTRODUÇÃO

No cultivo de hortaliças podem ocorrer diversas doenças prejudiciais ao seu crescimento e desenvolvimento, destruindo tecidos e até levando a morte da planta, o que afeta diretamente a produtividade e/ou a qualidade. As condições ambientais como umidade relativa, temperatura e precipitação na região onde são cultivadas são determinantes no aparecimento de doenças. Quando o cultivo das hortaliças é feito de forma intensiva e sem os devidos cuidados essas, doenças podem causar uma redução de até 100% na sua produtividade (PEREIRA et al., 2013).

Atualmente o tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das hortaliças com maior importância econômica mundial (SILVA, 2015), estando presente em todo o mundo e sendo uma das hortaliças que possui maior consumo (TOMAZONI et al., 2013). Ela possui grande importância comercial, sendo utilizado para a indústria e para o consumo *in natura* (ITAKO et al., 2009). Porém o aumento do cultivo da cultura surgiram problemas fitossanitários (ARAUJO et al., 2002).

Entre esses problemas está o fungo *Sclerotium rolfsii*, um patógeno importante habitante do solo, sendo responsável por causar murcha, tombamento de plântulas e podridões. O fungo ataca mais de 200 espécies de plantas, dentre essas a cultura do tomate (MARCUSO; SCHULLER, 2014). Como o patógeno forma uma estrutura de resistência, denominada de escleródio, o seu controle é de difícil realização, sendo o uso de produtos químicos a forma mais utilizada (LOPES; AVILA, 2005).

Atualmente o uso de produtos químicos tem gerado grande sucesso no controle de várias doenças, mas o seu uso em grande escala tem ajudado na seleção de patógenos resistentes (SANTOS NETO et al., 2016), além de provocar a contaminação do ambiente, de trabalhadores e consumidores, levando ao aumento do valor da produção, e outros fatores (TOMAZONI et al., 2013). Essa preocupação faz com que as populações se preocupem cada vez mais com a saúde humana e ambiental (LOPES et al., 2005), fazendo com que cada vez mais novas tecnologias voltadas a sustentabilidade do meio ambiente ganhe espaço, um exemplo disso é o uso de extrato bruto e óleo essencial oriundas de plantas medicinais (ITAKO et al., 2009).

Os óleos essenciais e os extratos brutos aquosos são produtos naturais derivados de plantas medicinais, que possuem potencial no controle de doenças em plantas, pois possuem características antifúngicas, antibacterianas e inseticidas, além disso são pouco tóxicos ao meio ambiente e ao ser humano (TOMAZONI et al., 2013).

Dentre as várias espécies de plantas com ação fungicida, algumas tem se destacado, como o alho (*Allium sativum* L.) e o alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) que são usadas como plantas condimentares e aromáticas e possuem características medicinais e atividade contra patógenos de espécies vegetais (LEITE et al., 2012). O alho possui propriedade bactericida, fungicida, vermífugo, antiviral e antiprotozoário. Possuindo cerca de 30 componentes biologicamente ativos como compostos sulfurados, como a alicina, o ajoeno, o tiosulfatos e o organosulfurados (SOUZA; SOARES, 2013). O alecrim possui propriedade analgésica, espasmolítica, antiinflamatória, antifúngica e possível propriedade antineoplásica, bem como atividade antimicrobiana (ALVES et al., 2008).

Sendo assim, este trabalho foi desenvolvido com objetivo de avaliar o efeito dos extratos e óleos essenciais extraídos de plantas de alho (*A. sativum*) e alecrim (*R. officinalis*) no desenvolvimento *in vitro* e *in vivo* do fungo *S. rolfsii*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CULTURA DO TOMATE

O tomate (*S. lycopersicum* L.) é uma planta perene que é cultivada anualmente, pertencente à família Solanaceae, acredita-se que sua origem ocorreu na parte ocidental das Américas Central e do Sul (FERREIRA, 2004). Possui porte arbustivo, suas flores são hermafroditas com 1-2 cm de diâmetro, com cinco ou mais pétalas e sépalas de forma helicoidal, seu ovário é bi ou plurilocular e o seu número de estames é de cinco ou mais (HAYASHI et al., 2013).

O tomate tem destaque por ser uma hortaliça cultivada e consumida no mundo inteiro, sendo os maiores produtores China, Índia e EUA (WEBER, 2015). A maioria da produção brasileira e chinesa são dedicadas a tomate de mesa (*in natura*), já a produção americana é dedicada à industrialização (FERREIRA, 2004).

O Brasil fica com a oitava posição na classificação mundial, com um volume de aproximadamente 4,2 milhões de toneladas por ano (SILVA, 2015). Nacionalmente, o tomate ocupa a 16ª posição entre os produtos agropecuários e o primeiro lugar na produção hortícola. O cultivo de tomate no Brasil é concentrado nos estados de Minas Gerais, Goiás, São Paulo. O estado de São Paulo possui uma área de 10,2 mil hectares plantados e produção de aproximadamente 675,2 mil toneladas de frutos (WEBER, 2015).

Existem dezenas de cultivares comerciais de tomate, que se diferenciam conforme as características do fruto: número de lóculos, peso médio e formato. Mas para a escolha da cultivar que será plantada depende da sua produtividade, da adaptação às condições de cultivo, solo, clima, manejo, sua utilização e destino do fruto (FERREIRA, 2004).

2.2 MOFO BRANCO

O tomate é uma cultura suscetível a vários problemas fitossanitários, são mais de 100 doenças de causas bióticas e abióticas que foram identificadas no mundo, sendo os fungos, os principais causadores das mesmas (CABRAL, 2012). Elas provocam diferentes níveis de redução de produtividade ou de qualidade do produto comercial. Alguns fungos causadores de doenças são *Cladosporium fulvum* (Cladosporiose) (ITAKO et al, 2009), *Alternaria solani* (podridão negra), *Botrytis* (podridão por mofo cinzento), *Geotrichum* sp. (podridão ácida), *Rhizopus* sp. (podridão algodosa) (FERREIRA, 2004), *S. rolfsii* (mofo Branco) (MARCUIZZO; SCHULLER, 2014), entre outras.

O fitopatógeno *S. rolfsii* é um fungo plurívoro que atinge um grande espectro de hospedeiros pelo mundo, se destacando na região tropical (DUARTE et al, 2006). Causa sintomas de podridão de raízes, do colo, de bulbos e frutos, além de causar murcha, tombamento de plântulas e podridões (Figura 1). Apresentando uma ampla escala de hospedeiros, chegando a mais de 200 espécies de plantas (MARCUIZZO; SCHULLER, 2014).

Figura 1 - Micelio e formação dos escleródios do fungo *S. rolfsii*.



Fonte: Marco Antônio Lucini (2013)

Os sintomas começam com lesões na cor acinzentada e aquosa no colo das plantas, passando para uma coloração castanha que chega até a raiz principal. Na parte aérea da planta ocorre o amarelecimento das folhas com posterior desfolha e murcha (FREIRE, 2015).

As condições ideais para o aparecimento da doença são períodos quentes (25 a 35 °C) com alta umidade, principalmente em lavouras como solos muito argilosos e/ou compactados que favorecem o encharcamento do solo (KUROZAWA; PAVAN, 2005).

Em condições de alta umidade o fungo apresenta um crescimento micelial muito vigoroso (cor branca) na superfície dos tecidos que foram afetados, podendo também se desenvolver na superfície do solo, rente ao colo da planta. Sob a superfície micelial pode ocorrer a formação de pequenas estruturas arredondadas de cor marrom-clara chamadas de escleródios. O escleródio é uma estrutura de resistência desse fungo no solo, podendo se manter vivo por vários anos (SILVA et al, 2006).

A sua disseminação pode ser por movimentação de água, ferramentas contaminadas, transporte de solos já infectados, utilização de mudas infectadas, frutas e legumes infectados e sementes que possuem a presença de esclerócios (SOUSA, 2012).

2.2.1 Descrição do patógeno

O *S. rolfsii* é um fitopatógeno habitante do solo, imperfeito ou mitospórico, da Ordem Mycelia Sterilia (BARNETT; HUNTER,1972). O fungo caracteriza-se pela formação de micélio vigoroso e grampos de conexão nas hifas, produz escleródios arredondados, pequenos (0,5 - 1,5 mm de diâmetro). A sua fase teleomórfica condiz ao basidiomiceto *Athelia rolfsii* (Curzi) Tu & Kimbrough, mas praticamente não é observado em condições ambientais brasileiras. A sua sobrevivência é realizada pelo micélio que fica na matéria orgânica e pelos escleródios no solo, além disso, o fungo pode ser disseminado pela água de irrigação, implementos agrícolas e sementes (REIS, 2014).

A germinação dos escleródios ocorre em temperaturas entre 10 e 35°C, a germinação diminui conforme vai aumentando a profundidade no solo. O pH ideal para essa germinação é 2,6 a 4,4. A germinação é induzida quando tem a presença de compostos voláteis liberados pelos restos de cultura no solo, pois o fungo precisa crescer saprofiticamente sobre substrato orgânico para depois atuar como patógeno. Quando o hospedeiro possui ferimentos o *S. rolfsii* é favorecido, mas ele pode penetrar de forma direta nos tecidos sadios nas proximidades da superfície do solo (REIS, 2014).

2.3 CONTROLE DO MOFO BRANCO

O patamar da agricultura mundial de hoje ocorre devido ao descobrimento e à utilização dos produtos químicos. A grande maioria das espécies cultivadas no Brasil como soja, alho, cebola, tomate, citros, entre outras, apresentam uma produtividade alta e alta qualidade devido o uso de fungicidas químicos (SOUSA, 2012).

O controle do mofo branco é de difícil realização, pois os escleródios (estruturas de resistência do patógeno) tem a capacidade de permanecer viáveis por anos no solo, mesmo quando as condições são adversas (DUARTE et al., 2006).

Medidas podem ser tomadas para minimizar os danos causados pela doença, como por exemplo, a rotação de cultura com cereais reduzindo-se o inóculo presente no solo (REIS, 2014) e a solarização para a desinfecção do solo (JESUS JUNIOR et al., 2007), além disso deve-se eliminar plantas daninhas suscetíveis ao patógeno e destruir e incorporar os restos de cultura. O plantio deve ser feito em solos com boa drenagem, evitando-se plantios densos e em solos áridos (REIS, 2014).

Muitos trabalhos possuem resultados positivos no controle da germinação dos escleródios e do crescimento micelial do *S. rolfsii*, porém, também se encontra na literatura

relatos da existência de isolados do fungo resistentes a fungicidas (SOUSA, 2012). Alguns fungicidas demonstram boa eficiência no controle de *S. rolfsii* como o tebuconazol, quintozene, iprodione e procimidona (DUARTE et al., 2006).

2.3.1 Controle alternativo

O uso indiscriminado de substâncias químicas para o controle de pragas e doenças resulta em poluição ambiental, risco à saúde humana e animal, seleção de patógenos resistentes e alto custo ao produtor. Essas problemáticas vêm pressionando a sociedade na busca pela redução do uso excessivo e único de métodos químicos para controle de patógenos. O uso do controle alternativo tem sido eficaz na redução do uso dos defensivos, pois proporciona um menor impacto ao meio ambiente e ao ser humano e diminui os custos financeiros em relação ao controle químico (SANTANA, 2015).

O uso de extratos ou óleos essenciais são técnicas que se enquadram nesses parâmetros, com isso vem sendo investigadas como estratégias de controle de patógenos. Essas substâncias naturais são provenientes de plantas medicinais com potências de combate a doenças em plantas, pois possuem propriedades antifúngicas, antibacterianas, inseticidas e são pouco tóxicas ao meio ambiente (TOMAZONI et al., 2013).

2.3.1.1 Alecrim

O alecrim (*R. officinalis* L.) é uma espécie vegetal, perene de haste lenhosa, ele pertence à família Lamiaceae, sua origem é a região Mediterrânea, atualmente se encontra alecrim em todos os continentes. Seu uso ocorre devido suas características aromáticas e ornamentais, sendo suas folhas normalmente utilizadas como condimento e para fins medicinais (OLIVEIRA, 2016).

Na literatura encontra-se relatos de algumas atividades do *R. officinalis*, como efeito antimicrobiano, antibacteriano, antifúngico, antimicobacteriano, anti-inflamatório, antitumoral, antioxidante, antimutagênico, neuroprotetivo, cardioprotetor, modulador de estresse oxidativo e DNA-protetivo (OLIVEIRA, 2016). Em alguns estudos o alecrim demonstrou uma capacidade de interferir na filamentação *in vitro* de amostras de *Candida albicans* (GAUCH et al., 2014). O óleo essencial de alecrim foi capaz de reduzir a severidade da mancha da folha e do míldio da videira (*Vitis labrusca*) (MAIA et al., 2014). Camatti-Sartori et al. (2011) comprovaram que o uso de extrato acético de alecrim tem potencial no controle alternativo nas doenças fúngicas de flores, sugerindo que existe compostos

biologicamente ativos, com efeito fungitóxico e Lorenzetti et al. (2016) demonstraram resultados que indicam o potencial do extrato de alecrim no controle de podridão cinzenta da haste em soja (*Glycine max* L.).

2.3.1.2 Alho

A espécie *A. sativum* L. é conhecida como alho, pertence à família das Liliáceas, seu centro de origem é a Ásia Central, mas é cultivada em vários países, sendo amplamente conhecida no Brasil. Ela é considerada um ingrediente de grande importância na culinária, além disso ela é rica em compostos sulfurados e possui grande concentração de fitoquímicos terapêuticos localizados nos bulbos (KLASSA et al., 2013).

O extrato e o óleo essencial de alho vêm sendo utilizado como bactericida, fungicida, vermífugo, antiviral e antiprotozoário, isso ocorre devido os componentes terapêuticos presentes na cultura, dentre esses componentes a aliína (um aminoácido) forma a alicina (dialil-tiosulfonato), que é uma substância que confere o aroma e atua na defesa no momento em que a planta é atacada por patógenos. Esse efeito proporcionado pela alicina se estende contra diversos microrganismos, isso justifica a sua grande diversidade de utilização (SOUZA et al., 2013).

A capacidade fungitóxica do extrato de alho vem sendo relatada na literatura, provando que ele é capaz de diminuir a germinação de esporos e de conídios de diversos fungos fitopatogênicos (SOUZA et al, 2013). Foi relatado que o extrato de alho e o óleo vegetal possuem um grande potencial no controle do míldio da videira, se destacando em vinhedos (LEITE et al., 2011). Os compostos voláteis que estão presentes no extrato bruto aquoso de alho possuem ação fungitóxica sobre *Aspergillus niger*, agente causador da podridão vermelha na cultura de sisal (SOUZA et al., 2013).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL DO EXPERIMENTO E OBTENÇÃO DO FUNGO *Sclerotium rolfsii*

O experimento foi realizado na Universidade Federal de Santa Catarina – Campus de Curitiba, no laboratório de Fitopatologia e em casa de vegetação da área experimental didática do Campus. A obtenção do patógeno foi realizada a partir de plantas doentes de tomate apresentando os sintomas de mofo branco, após o isolamento foi identificado e armazenado em BOD a 25°C e fotoperíodo de 12 h.

3.2 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO BRUTO E ÓLEO ESSENCIAL SOBRE O FUNGO *Sclerotium rolfsii*

Bulbilhos de alho (*A. sativum*) foram adquiridos de áreas produtoras da região de Curitiba, SC. As plantas de alecrim (*R. officinalis*) foram obtidas da Horta de Plantas Medicinais e Aromáticas localizado na Universidade Federal de Santa Catarina – Campus de Curitiba.

Para obtenção de cada extrato bruto aquoso de 30%, 60 g de folhas frescas de alecrim e 60 g bulbilhos de alho, foram triturados em 200 mL de água destilada em liquidificador industrial por aproximadamente 3 minutos. O homogenato foi filtrado e diluído com água destilada nas doses de 0, 5, 10, 15, 20 e 30% para o alho e 0, 10, 20 e 30% para o alecrim, a dose 0% consiste só em BDA com água. Ambos os extratos foram incorporados em meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar) e em seguida autoclavados.

Para avaliação *in vitro* do óleo essencial foram utilizadas concentrações crescentes de 0, 50, 100, 250, 500 e 1000 ppm do óleo essencial de alho industrial da marca Laszlo® e 0, 250, 500, 1000 e 2000 ppm do óleo essencial de alecrim industrial da marca By Samia®. Alíquotas dos óleos foram adicionadas em meio de cultura BDA fundente com exceção da concentração de 0 ppm que continha somente água e BDA. Além disso, foi adicionado antibiótico *Streptomincina* e *Penicillina* 500 mg/L⁻¹ e Tween 20® a 0,5 %.

Para avaliação da atividade antifúngica dos extratos e óleos essenciais sobre o crescimento micelial do fungo, os meios de cultura BDA com extrato e óleos foram distribuídos em placas de Petri. Após a solidificação do extrato com BDA, um disco de micélio (5 mm de diâmetro) foi repicado no centro das placas de Petri. As placas foram vedadas com filme plástico e incubadas em câmara de crescimento (BOD) a 25°C e fotoperíodo de 12 horas.

A avaliação do crescimento micelial iniciou-se 24 horas após a instalação do experimento, utilizando duas medidas opostas do diâmetro da colônia fúngica e perdurou por 7 dias ou quando no tratamento testemunha (somente BDA) atingisse 80% do crescimento na placa de Petri. Com os dados do crescimento foi calculada a área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) e o índice de velocidade de crescimento micelial do fungo (IVCM). Utilizou-se a equação proposta por CAMPBELL & MADDEN (1990):

$$AACCM = \sum \left(\frac{y_{i+1} + y_i}{2} \right) \cdot (t_{i+1} - t_i)$$

Em que y_i e y_{i+1} são os valores de crescimento da colônia observados em duas avaliações consecutivas, t_{i+1} e t_i são os períodos das avaliações.

Para cálculo do índice de velocidade do crescimento micelial (IVCM) foi aplicado à fórmula:

$$\text{Velocidade} = \frac{\text{diâmetro do halo de crescimento}}{\text{nº de dias de crescimento}}$$

Sendo o cálculo realizado no dia em que foi avaliada a paralisação do crescimento do patógeno.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 2 x 4 com 5 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância, e em seguida, análise de regressão para as doses a 5% de probabilidade.

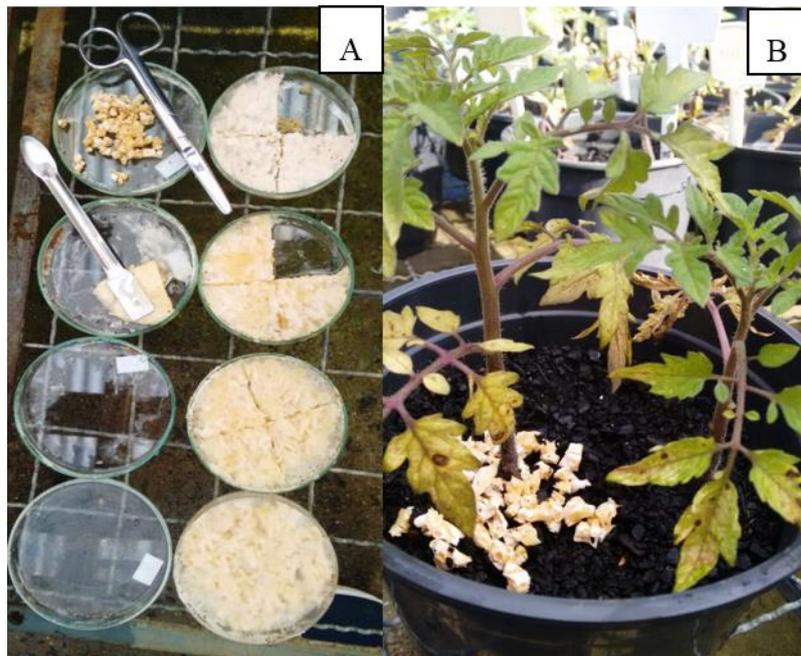
3.3 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATO BRUTO SOBRE O MOFO BRANCO *in vivo* EM PLÂNTULAS DE TOMATE

Para obtenção de mudas de tomate, foram semeadas sementes de tomate da variedade Gaúcho em bandejas de isopor de 128 células. Após 25 dias da semeadura, as mudas foram transplantadas para vasos de 4 litros com substrato industrializado a base de casca de pinus da marca Macplant® e terra adubada na proporção 2:1.

A produção de inóculo do mofo branco (*S. rolfsii*) foi realizada conforme a metodologia de BARBOSA et al. (2010). Esta metodologia consistiu em repicar o fungo em placas de Petri com meio de cultura BDA, vedar e colocar em BOD (25 °C e fotoperíodo de 12 horas) por cinco dias ou até o crescimento micelial dominar a placa. Após os cinco dias foram pesados 5 g de arroz parborilizado, submersos em água destilada por duas horas, coberto com papel laminado e autoclavado. Em seguida, o arroz autoclavado, foi distribuído sobre a colônia de *S. rolfsii*, vedadas e colocadas em BOD por mais 5 dias. Após esse período o arroz já se encontrava totalmente colonizado pelo fungo.

Em um primeiro ensaio foi verificado uma grande agressividade do fungo, levando a morte das plântulas de todos os tratamentos no período da câmara úmida, devido a quantidade de inóculo. Com isso os ensaios posteriores foram realizados com algumas modificações da quantidade de inóculo da metodologia de BARBOSA et al. (2010). Sendo a quantidade de inóculo reduzida em 25% (Figura 2).

Figura 2 - Produção em placas de Petri de inóculo de *S. rolfsii* em arroz autoclavado (A). Infestação do inóculo na base do colo da planta de tomate (B).



Fonte: Autor

O tratamento foi realizado 24 horas antes da inoculação com o fungo. As mudas foram tratadas com extrato bruto de alho e alecrim na concentração de 30%, fungicida químico Fluazinam (Cignus®) a uma concentração de 0,1% (dose comercial) e água e em um posterior experimento com óleos essenciais de alho a 100 e 1000 ppm e alecrim a 2000 ppm, fungicida químico Fluazinam (Cignus®) a uma concentração de 0,1% (dose comercial) e água. O segundo tratamento com os extratos e óleos foi realizado 24 h após a inoculação com o fungo.

Após 24 horas do primeiro tratamento, foi realizada a inoculação com *S. rolfsii* e uma câmara úmida em BOD a 25°C e fotoperíodo de 12 horas por 48 horas.

A avaliação da incidência da doença foi realizado 24 e 48 horas após os tratamentos, com a presença de plantas com sintomas de necrose e constrição do colo devido à murcha-de-esclerócio causada pelo mofo branco (*S. rolfsii*).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) utilizando os seguintes tratamentos: extrato de alho a 30%, extrato de alecrim a 30%, óleo de alho 100 e

1000 ppm, óleo de alecrim 2000 ppm, fungicida Fluazinam a 0,1% e testemunha (Somente água), com cinco repetições. Cada parcela foi constituída por um vaso com duas plantas. Os dados foram submetidos à análise de variância a 5% de probabilidade.

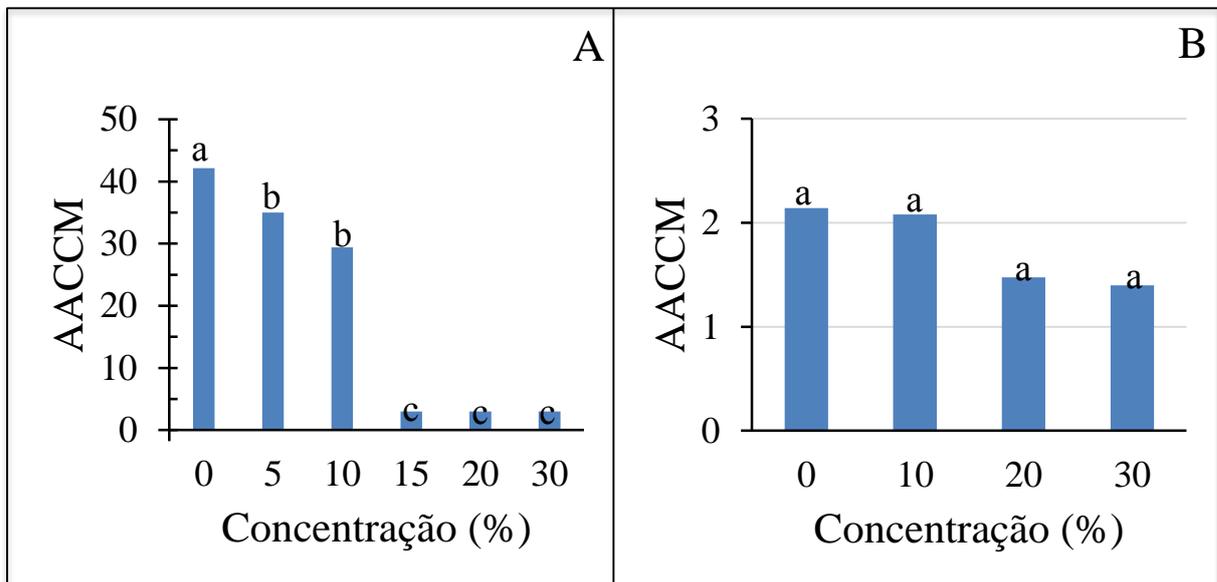
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 EXTRATO BRUTO

4.1.1 Avaliação do crescimento micelial

O crescimento micelial de *S. rolfsii* (Figura 3), demonstrou que o extrato de alho a partir da concentração de 15% inibiu totalmente o desenvolvimento do fungo. O extrato de alecrim não apresentou efeito inibitório no desenvolvimento do fungo.

Figura 3 - Área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) de *S. rolfsii* para o meio de cultura BDA com extrato bruto de alho (A) e extrato bruto de alecrim (B).



Fonte: Autor

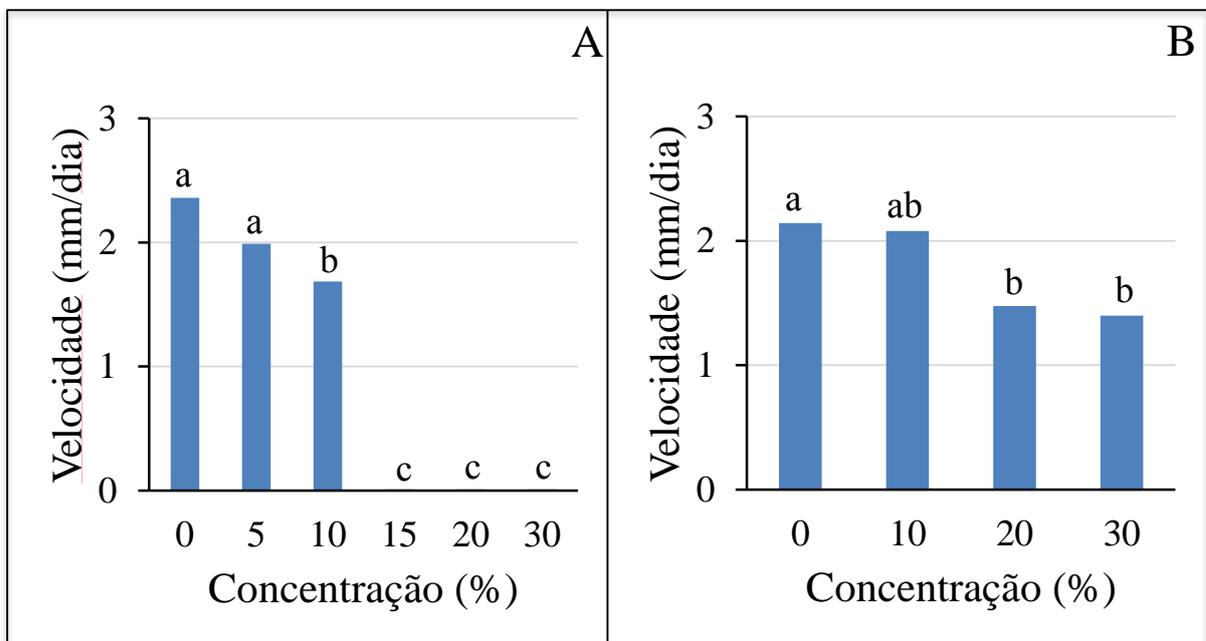
Alguns extratos já vêm demonstrando efeitos satisfatórios em alguns patossistemas, tais como, os extratos de eucalipto-limão (*Corymbia citriodora*), capim limão (*Cymbopogon citratus*) alho (*A. sativum*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*) e alecrim (*R. officinalis*) (VIVAS, et al., 2011; FLÁVIO et al., 2014) em vários tipos de patógenos como o *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum fragariae* (VIVAS, et al., 2011), *Curvularia* (FLÁVIO et al., 2014) *Alternaria alternata* e *Fusarium* sp. (VENZON et al., 2006).

O efeito inibitório no crescimento micelial constatado neste trabalho com extrato de alho, também foi observado por outros autores. Sendo constatado em fungos causadores de antracnose em morangueiro (*C. acutatum*) (ALMEIDA et al., 2009), *Colletotrichum gloeosporioides*, *Pyricularia oryzae* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (SILVA et al., 2012) e no agente causal da antracnose da videira (*Elsinoe ampelina*) (BOTELHO et al., 2009; LEITE et al., 2012).

Em trabalhos com extrato bruto aquoso de alecrim o fungo *Exserohilum turcicum* apresentou 54% de inibição sobre o crescimento (SCAPIN et al., 2010). Apesar de efeitos positivos do extrato de alecrim no desenvolvimento de outros patógenos, no presente trabalho o extrato de alecrim não apresentou inibição de *S. rolfsii*.

Em relação ao Índice de Velocidade Crescimento Micelial do fungo (IVCM) a partir da concentração de 5% o extrato de alho reduziu a velocidade, pois a partir da concentração de 15% não houve desenvolvimento do fungo (Figura 4). O alecrim apresentou uma mínima redução na velocidade do crescimento micelial a partir da dose 20%.

Figura 4 - Índice de velocidade crescimento micelial (IVCM) do fungo *S. rolfsii* avaliados sob o desenvolvimento nos extrato bruto de alho (A) e para o extrato bruto de alecrim (B).



Fonte: Autor

4.1.2 Avaliação da incidência do mofo branco em plântulas de tomate

Os ensaios com plântulas de tomate foram realizados duas vezes, no primeiro ensaio foi realizado seguindo a metodologia para a produção de inóculo do mofo branco (*S. rolfsii*) conforme BARBOSA et al. (2010), porém foi verificado uma grande agressividade do fungo.

No segundo ensaio não foi verificado a eficiência dos extratos tanto de alho como de alecrim, nas doses de 30%, sendo que somente o fungicida Fluazinam inibiu o desenvolvimento do fungo (Figura 5 e Tabela 1).

Figura 5 - Vasos com plântulas de tomate após inoculação com *S. rolfsii* e tratamento com fungicida, alho, alecrim e água, da esquerda para direita.



Fonte: Autor

Tabela 1 – Resultados da avaliação da incidência do mofo branco em plântulas de tomate tratadas com água, fungicida, extrato de alho 30% e extrato de alecrim 30 %.

Tratamentos	Testemunha	Fungicida	Alho 30%	Alecrim 30%
Resultado	Morte da plântula	Controle do fungo	Morte da plântula	Morte da plântula

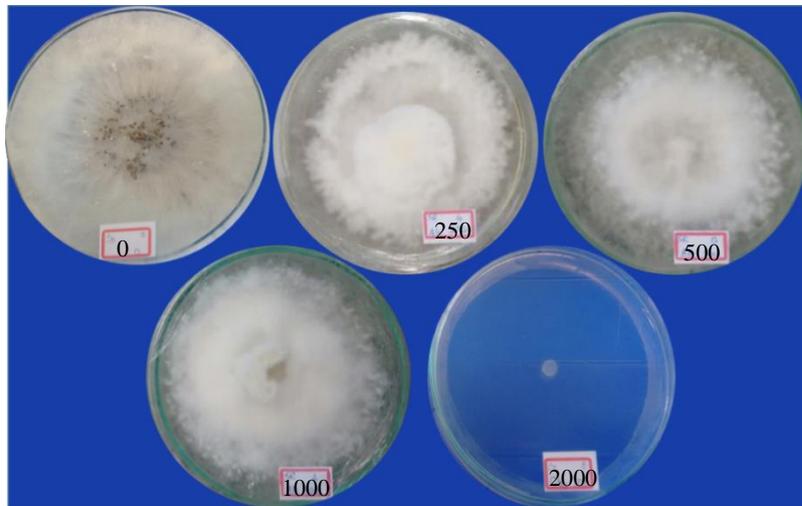
Fonte: Autor

4.2 ÓLEO ESSENCIAL

4.2.1 Avaliação do crescimento micelial

Com base nos dados obtidos os dois óleos inibiram totalmente o crescimento micelial do fungo *S. rolfsii*, a partir da concentração 2000 ppm de óleo de alecrim (Figura 6 e Tabela 2) e a partir da concentração 100 ppm para óleo de alho (Figura 7 e Tabela 3).

Figura 6 - Crescimento micelial *S. rolfii* em óleo essencial de alecrim nas doses de 0, 250, 500, 1000 e 2000 ppm.



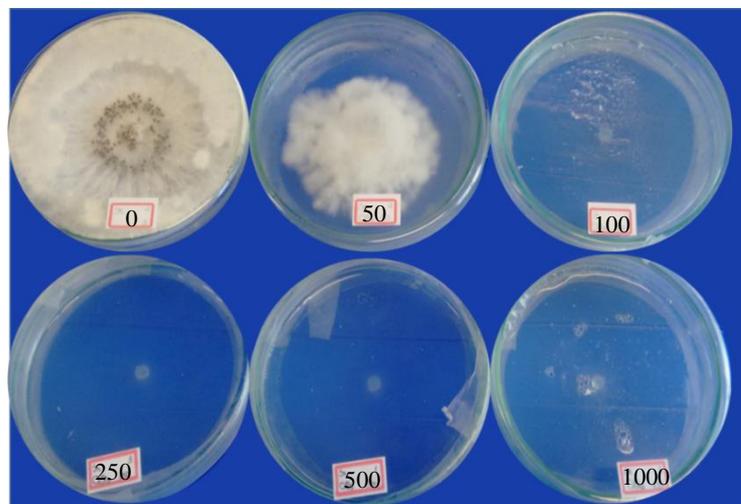
Fonte: Autor

Tabela 2 – Resultados da avaliação da incidência do mofo branco em meio de cultura BDA sem óleo essencial e com óleo essencial de alecrim nas doses 0, 250, 500, 1000 e 2000 ppm.

Tratamentos	Testemunha	Alecrim	Alecrim	Alecrim	Alecrim
	0 ppm	250 ppm	500 ppm	1000 ppm	2000 ppm
Resultado	100 % de crescimento do fungo na placa	100 % de crescimento do fungo na placa	100 % de crescimento do fungo na placa	100 % de crescimento do fungo na placa	Inibição do fungo

Fonte: Autor

Figura 7 - Crescimento micelial *S. rolfii* em óleo essencial de alho nas doses de 0, 50, 100, 250, 500 e 1000 ppm.



Fonte: Autor

Tabela 3 – Resultados da avaliação da incidência do mofo branco em meio de cultura BDA sem óleo essencial e com óleo essencial de alho nas doses 0, 50, 100, 250, 500 e 1000 ppm.

Tratamentos	Testemunha	Alho	Alho	Alho	Alho	Alho
	0 ppm	50 ppm	100 ppm	250 ppm	500 ppm	1000 ppm
Resultado	100 % de crescimento do fungo na placa	50 % de crescimento do fungo na placa	Inibição do fungo	Inibição do fungo	Inibição do fungo	Inibição do fungo

Fonte: Autor

Segundo Souza et al., (2004) o óleo essencial do alho, inibiu o desenvolvimento micelial dos fungos *Penicillium* spp., *Eurotium repens* e *Aspergillus niger in vitro*, além de inibir o fungo e a esporulação de *Rhizopus stolonifer* e o fungo *C. gloeosporioides* isolados da cultura do morango (SILVA, 2008). O óleo também foi capaz de reduzir o crescimento micelial e inibir o crescimento *Aspergillus flavus*, isolados de sementes de amendoim (VEIGAS et al., 2005).

Em trabalhos realizados com o óleo essencial de alecrim (*R. officinalis*) constataram que ele é capaz de reduzir a severidade da mancha da folha e do míldio da videira (MAIA et al., 2014), inibindo distintamente o crescimento micelial de *Alternaria carthami*, *Alternaria* sp. e *Rhizoctonia solani* (HILLEN et al., 2012) e reduzindo o crescimento micelial de *Phomopsis sojae* obtido da soja.

4.2.2 Avaliação da incidência do mofo branco em plântulas de tomate

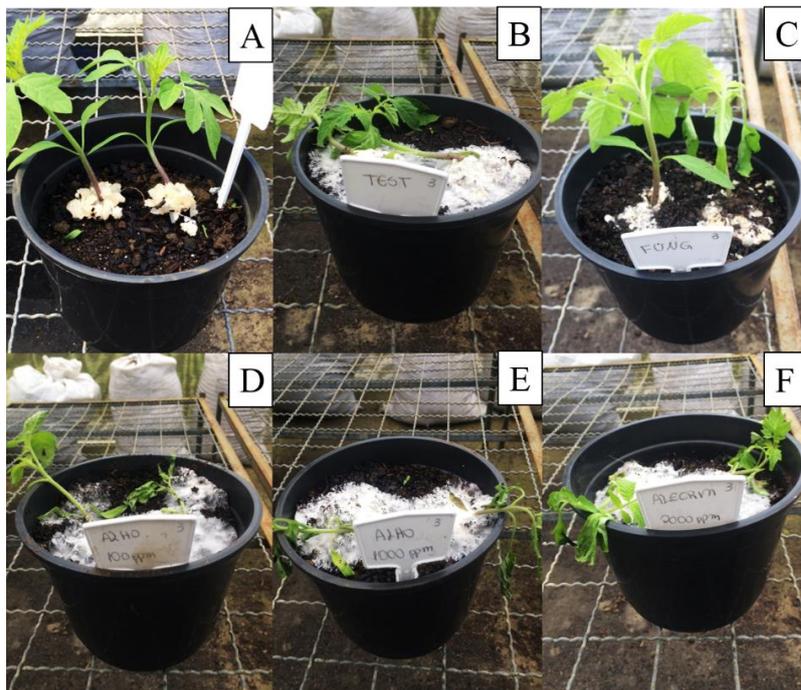
O ensaio com os óleos essenciais em plântulas de tomate foram realizado de acordo com a metodologia de BARBOSA et al. (2010), com a quantidade de inóculo reduzida em 25%, conforme descrito no item 4.1.2. Não foi constatado a eficiência do óleo essencial de alho nas concentrações 100 e 1000 ppm e do alecrim na concentração de 2000 ppm. Somente o fungicida Fluzinam inibiu o desenvolvimento do fungo (Figuras 8 e 9 e Tabela 4).

Figura 8 - Vasos com plântulas de tomate após inoculação com *S. rolfsii* e tratamento com água, fungicida, alho 100 ppm, alho 1000 ppm e alecrim 2000 ppm da esquerda para a direita.



Fonte: Gabriela Carolina dos Santos

Figura 9 - Vasos com plântulas de tomate no dia da inoculação (A) e 24 h após os tratamentos com água (B), fungicida (C), alho 100 ppm (D), alho 1000 ppm (E) e alecrim 2000 ppm (F).



Fonte: Autor

Tabela 4 – Resultados da avaliação da incidência do mofo branco em plântulas de tomate tratadas com água, fungicida, óleo essencial de alho 100 e 1000 ppm e óleo essencial de alecrim 30 %.

Tratamentos	Testemunha	Fungicida	Alho 100 ppm	Alho 1000 ppm	Alecrim 2000 ppm
Resultado	Morte da plântula	Controle do fungo	Morte da plântula	Morte da plântula	Morte da plântula

Fonte: Autor

Apesar dos resultados promissores apresentados pelos óleos essenciais de alecrim na dose 2000 ppm e de alho a partir da dose de 100 ppm para inibição do desenvolvimento *in vitro* do patógeno analisado, no experimento *in vivo* não foi observado a inibição do fungo e nem na inibição da severidade da doença, isso pode estar ligado a presença de escleródios na inoculação, tornando o fungo mais agressivo.

Outra explicação aos resultados *in vivo*, pode estar relacionada a quantidade do óleo utilizada no trabalho o que demanda mais estudos com doses, além disso, os óleos essenciais volatilizam em contato o meio ambiente sendo necessário estudos sobre a possibilidade do uso de adjuvante. Os fatores ambientais favorecem o fungo o que não ocorre nos ensaios *in vitro*, pois o ambiente é manipulado.

Outro autores também chegaram em resultados semelhantes, Inácio et al. (2009) observou que os óleos de erva-cidreira (*Melissa officinalis*), capim-cidreira (*C. citratus*), citronela (*Cymbopogon winterianus*) e canela (*Cinnamomum zeylanicum*) demonstraram eficiência na inibição e diminuição do desenvolvimento dos fungos *Phomopsis phaseoli* var. *sojae*, *Fusarium* sp. e *Macrophomina phaseolina in vitro*, porém *in vivo* não foi eficiente, sugerindo a realização de testes com adição de compostos que reduzam a evaporação dos óleos essenciais. Dias-Arieira et al. (2010) observaram que apesar do óleo de *Eucalyptus citriodora* ter inibido o crescimento micelial de *C.acutatum*, não ocorreu nenhum efeito significativo no controle deste fungo em condições de campo.

5 CONCLUSÃO

O extrato bruto de alho inibiu o crescimento micelial do *S. rolfsii* a partir da concentração 15%, e diminuiu a velocidade de crescimento do fungo. O extrato de alecrim não demonstrou efeito fungitóxico sobre o *S. rolfsii*.

Os óleos essenciais obtiveram resultados promissores no experimento *in vitro*. Ambos inibiram o desenvolvimento micelial do fungo, confirmando a sua eficiência fungitóxica.

Apesar de ter sido observado o efeito inibitório do extrato bruto de alho e dos óleos essenciais de alho e alecrim em condições *in vitro* e em condições *in vivo*, os resultados demonstraram a não eficiência em inibir o desenvolvimento do fungo, sendo necessário um maior estudo sobre a quantidade do óleo utilizado no trabalho, além disso, os óleos essenciais volatilizam em contato com o meio ambiente sendo necessários estudos sobre a possibilidade do uso de adjuvante.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, Taís F.; CAMARGO, Margarete; PANIZZI, Rita C. Efeito de extratos de plantas medicinais no controle de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da flor preta do morangueiro. **Summa Phytopathologica**, v. 35, n. 3, p. 196-201, jul.-set., 2009.
- ALVES, Pollianna M.; PEREIRA, Jozinete V.; HIGINO, Jane S.; PREIRA, Maria S. V.; QUEIROZ, Léia M. G. Atividade antimicrobiana e antiaderente in vitro do extrato de *Rosmarinus officinalis* Linn. (alecrim) sobre microrganismos cariogênicos. **Arquivos em Odontologia**, v. 44, n. 2, p. 53-58, abr.-jun., 2008.
- ARAÚJO, João P. B.; FURTADO, Edson L.; GRASSI FILHO, Hélio; LOMBARDI, Ana P. Z. Aplicação de fungicida na cultura do tomateiro via água de irrigação em cultivo protegido. **Irriga**, Botucatu, v. 7, n. 2, p. 81-90, 2002.
- BARBOSA, Rosianne N. T.; HALFELD-VIEIRA, Bernardo A.; NECHET, Kátia L.; SOUZA, Giovanni R. Método para inoculação de *Sclerotium rolfsii* em tomateiro. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 4, n. 1, p. 49 - 52, jan.-jun., 2010.
- BARNETT, Horace L.; HUNTER, Barry B. **Illustrated Genera of Imperfect Fungi**. Minnesota: Ed. Burgess Publishing Company, ed. 3, 1972.
- BOTELHO, Renato V.; MAIA, Aline J.; PIRES, Erasmo J. P.; TERRA, Maurilo M. Efeito do extrato de alho na quebra de dormência de gemas de videira e no controle in vitro do agente causal da antracnose (*Elsione ampelina* Shear). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 1, p. 96-102, mar., 2009.
- CABRAL, Ricardo Nunes. **Progresso temporal da Septoriose em tomateiro orgânico em distintos sistemas e níveis de irrigação**. 2012. 31 p. Dissertação (Graduação) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, Brasília, 2012.
- CAMATTI-SARTORI, Valdirene; MAGRINI, Flaviane E.; CRIPPA, Liziane B.; MARCHETT, Cassiano; VENTURIN, Leandro; SILVA-RIBEIRO, Rute T. Avaliação *in vitro* de extratos vegetais para o controle de fungos patogênicos de flores. **Rev. Bras. de Agroecologia**, v. 6, n. 2, p. 117-122, abr., 2011.
- CAMPBELL, C. Lee; MADDEN, Laurence V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: Ed. J. Wiley, 1990.
- DIAS-ARIEIRA, Cláudia R.; FERREIRA, Luca R.; ARIEIRA, Jailson O.; MIGUEL, Edenilson G.; DONEGA, Mateus A.; RIBEIRO, Regina C. F. Atividade do óleo de *Eucalyptus citriodora* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum acutatum* em morangueiro. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 36, n. 3, p. 228-232, jun., 2010.
- DUANGMAL, Kiattisak; APENTEN, Richard K. O. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). **Food Chemistry**, London, v. 64, n. 3, p. 351-359, fev., 1999.
- DUARTE, Maria L. R.; TABARANÃ, Maria G. F.; ALBUQUERQUE, Fernando A. B.; MORAES, Alessandra J. G. Controle Químico da Podridão das estacas (*Sclerotium rolfsii*) da Pimenteira-do-reino. **Comunicado Técnico**, Belém, v. 1, p. 1-2, jun., 2006.

FERREIRA, Sila Mary Rodrigues. **Características de qualidade do tomate de mesa (*Lycopersicon esculentum* mill.) cultivado nos sistemas convencional e orgânico comercializado na região metropolitana de Curitiba**. 2004. 249 p. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

FLÁVIO, Nicoletta S. D.; SALES, Nilza L. P.; AQUINO, César F.; SOARES, Eriksen P. S.; AQUINO, Lucas F. S.; CATÃO, Hugo C. R. M. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de sorgo tratadas com extratos aquosos e óleos essenciais. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 1, p. 7-20, jan.-fev., 2014.

FREIRE, Tamiris C. **Extrato vegetal de *Piper* com potencial atividade antifúngica contra *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii***. 2016. 62 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Fundação Universidade Federal de Rondônia, Campus de Rolim de Moura, Rolim de Moura, 2016.

GAUCH, Lurdete M.; SILVEIRA-GOMES, Fabíola; ESTEVES, Renata A.; PEDROSA, Simone S.; GURGEL, Ely S.; ARRUDA, Albeto C.; MARQUES-DA-SILVA, Silvia. Effects of *Rosmarinus officinalis* essential oil on germ tube formation by *Candida albicans* isolated from denture wearers. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 47, n. 3, p. 389-391, mai.-jun., 2014.

HAYASHI, Ana M.; AGOSTINI, Kayna; NOCELLI, Roberta C. F. Influência da morfologia floral no comportamento dos visitantes florais: estudo de caso de *Solanum lycopersicum* (Solanaceae). In: **64º Congresso Nacional de Botânica**, Belo Horizonte, 1 p., 2013.

HILLEN, Táisa; SCHWAN-ESTRADA, Kátia R. F.; MESQUINI, Renata M.; CRUZ, Maria E. S.; STANGARLIN, José R.; NOZAKI, Márcia. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle de alguns fitopatógenos fúngicos *in vitro* e no tratamento de sementes. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu, v. 14, n. 3, p. 439-445, 2012.

INÁCIO, Mariane M.; PASCUALI, Luiz C.; ZELA, Sandro P.; PAULA, Pábio R. Diagnóstico de óleos essenciais, sobre o desenvolvimento de *Phomopsis phaseoli* var. sojae, *Fusarium* sp. e *Macrophomina phaseolina*. In: **2º Jornada Científica da Unemat**, Barra do Bugres, 5 p., 2009.

ITAKO, Adriana T.; SCHWAN-ESTRADA, Kátia R. F.; STANGARLIN, José R.; TOLENTINO JR, João B.; CRUZ, Maria. Controle de *Cladosporium fulvum* em tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.76, n.1, p.75-83, jan.-mar., 2009.

JESUS JUNIOR, Waldir C.; ALVES, Fábio R.; VALADARES JUNIOR, Ranolfo; ZAMBOLIM, Laércio. Clima como fator determinante no manejo de doenças de hortaliças. In: ZAMBOIM, Laércio [et al.] (Editores). **Manejo integrado de doenças e pragas: hortaliças**. Viçosa: Ed. UFV; DFP, 2007, p. 1-75.

KLASSA, Bruna; GROSSELI, Marcela M., KIYOMURA, Alexandre K.; ALVES, Maria J. Q. F. Avaliação do efeito do alho (*Allium sativum* L.) sobre o colesterol plasmático em coelhos com hipercolesterolemia induzida. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.15, n.4, p.557-565, fev., 2013.

KUROZAWA, Chukichi; PAVAN, Marcos Antônio. Doenças do tomateiro. In: KIMATI, Hiroshi [et al.] (Editores). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 2005, p. 607-626.

LEITE, Carla. D.; MAIA, Aline. J.; BOTELHO, Renato. V.; FARIA, Cacilda. M. D. R.; MACHADO, Danielle. Extrato de alho no controle *in vitro* e *in vivo* da antracnose da videira. **Revista brasileira de plantas medicinais**, Botucatu, v. 14, n. 3, p. 556-562, 2012.

LEITE, Carla D.; VOTELHO, Renato V.; FARIA, Cacilda M. D. R.; MAIA, Aline J. Extrato de alho e óleo vegetal no controle do míldio da videira. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 33, n. 2, p. 429-436, jun. 2011.

LOPES, Everaldo A.; FERRAZ, Silamar; FREITAS, Leandro. G.; FERREIRA, Paulo. A.; AMORA, Deisy X. Efeito de extratos aquosos de mucuna preta e de manjeriço sobre *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 29, n. 1, p. 67-74, mai., 2005.

LOPES. Calos Alberto; ÁVILA, Antônio Carlos (Org.). **Doenças do Tomateiro**. Brasília: Ed. Embrapa Hortaliças, 2005.

LORENZETTI, Eloisa; HOEPERS, Livia; STANGARLIN, José R.; KUHN, Odair J. Controle de podridão cinzenta da haste em soja por extrato de alecrim. In: **Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia**, Foz do Iguaçu, 5 p., 2016.

MAIA, Aline J.; SCHWAN-ESTRADA, Kátia R. F.; FARIA, Cacilda M. D. R.; OLIVEIRA, Juliana S. B.; JARDINETTI, Virlene A.; BATISTI, Bruno N. Óleo essencial de alecrim no controle de doenças e na indução de resistência em videira. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 49, n. 5, p. 330-339, mai., 2014.

MARCUZZO, Leando Luiz; SCHULLER, Aline. Sobrevivência e viabilidade de escleródios de *Sclerotium rolfsii* no solo. **Summa Phytopathol**, Botucatu, v. 40, n. 3, p. 281-283, jun., 2014.

OLIVEIRA, Jonatas Rafael. **Avaliação de atividades biológicas dos extratos de *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim) e *Thymus vulgaris* L. (tomilho)**. 2016. 156 p. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos, 2016.

PEREIRA, Ricardo B.; CARVALHO, Agnaldo D. F.; PINHEIRO, Jadir B. Diagnose e controle alternativo de doenças em tomate, pimentão, cucurbitáceas e cenoura. **Circular técnico**, Brasília, v. 1, mar., 2013.

REIS, Marcella Telesdos. **Identificação e avaliação do potencial de uso de isolados de *Trichoderma contra Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii***. 2014. 117 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, Departamento de Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

SANTANA, Ana Paula dos Santos. **Efeitos de produtos alternativos no controle de doenças na videira**. 2015. 118 p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Ilha Solteira, 2015.

SANTOS NETO, José; SCHEWAN-ESTRADA, Kátia R. F.; TEMPORAL, Walter M.; ANDRADE, Lucas M. A.; SENA, José O. Subprodutos de capim-limão no controle de septoriose do tomateiro cultivados em sistema de produção orgânico. **Revista Brasileira de agroecologia**. v. 11, n. 1, p. 35-44, ago., 2016.

SCAPIN, Claudia R.; CARNELOSSI, Patricia R.; VIEIRA, Rafael A.; SCHWAN-ESTRADA, Kátia R. F.; CRUZ, Maira E. S. Fungitoxidade *in vitro* de extratos vegetais sobre *Exserohilum turcicum* (Pass) Leonard & Suggs. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 1, p. 57-61, jan.-mar., 2010.

SILVA, Fernanda Chaves. **Efeito *in vitro* e *in vivo* dos óleos essenciais de condimentos sobre fungos que ocorrem em pós-colheita em frutos de morango e mamão**. 2008. 85 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2008.

SILVA, Jhonata L.; TEIXEIRA, Raimundo N. V.; SANTOS, Danielle I. P.; PESSOA, Jonas O. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o crescimento *in vitro* de fitopatógenos. **Revista Verde**, Mossoró, v. 7, n. 1, p. 80-86, jan.-mar., 2012.

SILVA, João B. C.; GIORDANO, Leonardo B.; FURUMOTO, Ossami; BOITEUX, Leonardo S. B.; FRANÇA, Félix H.; BOAS, Geni L. V.; BRANCO, Marina C.; MEDEIROS, Maria A.; MAROUELLI, Waldir; SILVA, Washington L. C.; LOPES, Carlos A.; ÁVILA, Antonio C.; NASCIMENTO, Warley M.; PEREIRA, Welington. Cultivo de Tomate para Industrialização: Doenças – Fungos. **Emprapa hortaliças**: Sistema de produção, e. 1-2, dez., 2006.

SILVA, Juliana Almeida Barros. **Regulação da biossíntese da vitamina E em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.): da diversidade natural à manipulação do metabolismo**. 2015. 247 p. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociência, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2015.

SOUSA, Thiago Gomes. **Controle da Podridão por *Sclerotium rolfsii* em Alho (*Allium sativum* L.) e Cebola (*Allium cepa* L.) por *Trichoderma***. 2012. 68 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2012.

SOUZA, Liane S. S.; SOARES, Ana C. F. Extrato aquoso de alho (*Allium sativum* L.) no controle de *Aspergillus niger* causador da podridão vermelha em sisal. **Tecnológica**, Santa Cruz do Sul, v. 17, n. 2, p. 124-128, dez., 2013.

SOUZA, Sára M. C.; PEREIRA, Marcelo C.; ANGÉLICO, Caroline L.; PIMENTA, Carlos J. Avaliação de óleos essenciais de condimentos sobre o desenvolvimento micelial de fungos associados a produtos de panificação. **Ciênc. agrotec.**, v. 28, n. 3, p. 685-690, jan., 2004.

SOUZA, Thiago G.; BLUM, Luiz E. B. Uso de *Trichoderma harzianum* e condicionador orgânico de solo para controle da podridão por *Sclerotium rolfsii* em alho. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 29, n. 1, p. 1616-1623, nov., 2013.

TOMAZONI, Elisa Z.; GIANI, Stefani G.; RIBEIRO, Rute T. S.; PAULETTI, Gabriel F.; SCHWAMBACH, Joséli. Atividade antifúngica do óleo essencial de *Cinnamomum*

zeylanicum Ness sobre fungos fitopatogênicos do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Cadernos de Agroecologia**, v. 11, n. 2, p. 1-5, nov., 2013.

VENZON, Madelaine; PAULA JÚNIOR, Trazilbo José de; PALLINI, Angelo. **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa, MG: Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, 2006.

VIEGAS, Elson C.; SOARES, Andréa; CARMO, Margarida G. F.; ROSSETTO, Claudia 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.

VIVAS, Marcelo; SILVA, Dalza G.; PEREIRA, Amilton J.; SILVA, Janieli M. Inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum acutatum* por extrato aquoso e óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf e *Corymbia citriodora* Hill & Johnson. **Biofar: Revista de Biologia e Farmácia**, v. 05, p. 83-88, 2011.

WEBER, Ronald Ernst Heinrich. **Aplicação de reguladores vegetais na produção e qualidade de frutos do tomateiro**. 2015. 46 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2015.