

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA FLORESTAL**

Vanessa Alba da Silva

**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES
FLORESTAIS**

Santa Maria, RS
2019

Vanessa Alba da Silva

**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES
FLORESTAIS**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Engenharia Florestal**.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Marlove Fatima Brião Muniz

Santa Maria, RS, Brasil
2019

Silva, Vanessa Alba da
ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES
FLORESTAIS / Vanessa Alba da Silva.- 2019.
67 p.; 30 cm

Orientadora: Marlove Fátima Brião Muniz
Coorientadora: Berta Maria Heinzmann
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Engenharia Florestal, RS, 2019

1. Extrativos vegetais 2. Efeito fungicida 3.
Fusarium 4. Pestalotiopsis 5. Colletotrichum I. Brião
Muniz, Marlove Fátima II. Heinzmann, Berta Maria III.
Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

© 2019

Todos os direitos autorais reservados a **Vanessa Alba da Silva**. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita com autorização por escrito da autora.

Endereço: Rua Vicente do Prado Lima, Nº 465, Apto. 201, Santa Maria, RS, Brasil

CEP: 97.015-030


E-mail: vanessaalba115@gmail.com

Vanessa Alba da Silva


**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES
FLORESTAIS**

Dissertação apresentada ao curso de Pós
Graduação em Engenharia Florestal, da
Universidade Federal de Santa Maria
(UFSM) como requisito parcial para
obtenção do título de **Mestre em
Engenharia Florestal**.


Aprovado em 18 de fevereiro de 2019:



Marlove Fatima Brião Muniz, Dra. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)



Daniela Thomas da Silva, Dra.



Marília Lazarotto, Dra. (UFRGS)

Santa Maria, RS
2019

*Aos meus pais, por todo o amor, carinho, apoio e dedicação
ao longo da minha trajetória de vida.*

Dedico este trabalho!

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado forças para nunca desistir, por sempre ter me guiado na busca dos meus ideais, e por tudo que me concede a cada momento.

Aos meus Pais Claudemir Santos da Silva e Dilce Alba da Silva, minha eterna gratidão, vocês sempre serão os meus exemplos de vida. Agradeço aos meus irmãos Vlademir e Keila, por todo o afeto, apoio e compreensão nos momentos de minha ausência.

Ao meu namorado Dionei Schmidt Muraro, por todas as palavras de conforto, pelo incentivo e por sempre ter me auxiliado no desenvolvimento dos meus trabalhos, desde a graduação até o momento.

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, por possibilitarem a realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro por meio da concessão da bolsa de mestrado.

À Professora Dr^a. Marlove Fátima Brião Muniz, por ter me aceitado como orientada, por sua atenção, pelos ensinamentos e confiança em meu trabalho.

À Professora PhD. Berta Maria Heizmann, pela co-orientação, pelos ensinamentos e por ter me acolhido no Laboratório de Extrativos Florestais sempre que precisei.

À banca examinadora, constituída pela Dr^a. Daniela Thomas da Silva e Prof^a. Dr^a. Marília Lazarotto.

Aos meus amigos que apesar da distância, sempre se fizeram presentes, me apoiaram, me deram forças nos momentos de dificuldades e comemoram comigo as minhas conquistas. Vocês sempre terão um lugar especial em meu coração.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Fitopatologia Elocy Minussi agradeço pelo auxílio na realização deste trabalho, pela troca de conhecimento e afeto, além das rodadas de chimarrão e pipoca, que permitiram que esta caminhada fosse mais alegre.

Aos colegas do Laboratório de Extrativos Vegetais, em especial ao Carlos Pinheiro e a Nadia Bianchini, por compartilharem seus aprendizados e terem me apoiado do início ao fim da realização deste trabalho.

À laboratorista Maria Nevis Deconto pelos ensinamentos, amizade e principalmente pelo carinho e atenção durante esse período.

A todos que, de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho e com meu crescimento profissional e pessoal durante esta trajetória.

GRATIDÃO!

“A menos que modifiquemos a nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo”.

Albert Einstein, 1905.

RESUMO

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES FLORESTAIS

AUTORA: Vanessa Alba da Silva

ORIENTADORA: Marlove Fatima Brião Muniz.

Os cultivos florestais são altamente afetados por doenças fúngicas, no entanto o mercado carece de produtos alternativos aos produtos químicos para o controle destes patógenos. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antifúngica de óleos essenciais e seus efeitos nas características morfofisiológicas dos fungos. Os ensaios foram conduzidos em laboratório com os óleos essenciais extraídos de folhas de *Nectandra grandiflora*, *Nectandra megapotamica* e *Piper gaudichaudianum*, e tiveram os constituintes químicos identificados através da análise em cromatografia gasosa. Os fungos do gênero *Fusarium*, *Cladosporium*, *Pestalotiopsis*, *Colletotrichum* e *Lasiodiplodia* foram repicados para o meio Batata-dextrose-ágar (BDA), enriquecido com 1 μ L mL⁻¹ de óleo previamente diluído em etanol. O controle negativo foi constituído por meio BDA combinado com etanol e o controle positivo constituiu-se da suplementação do meio com fungicida Propiconazole, as placas foram incubadas em condições controladas a 25 °C, com 12h de fotoperíodo. Avaliou-se o crescimento das colônias diariamente e após 10 dias foi caracterizado a esporulação, coloração da colônia, tamanho de esporo e modo de ação dos óleos. As variáveis analisadas foram crescimento micelial, taxa de crescimento micelial e inibição de crescimento micelial, em delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições. O óleo essencial (OE) de *N. grandiflora* foi composto majoritariamente por (+)-Deidrofuquinona(26%), Epóxido de deidrofuquinona (12,81%), o OE de *N. megapotamica* foi por α -Pino (23,19%), β -Pino (17,13%), Epatulenol (11,68) e para o OE de *P. gaudichaudianum* o fenilpropanoide Dilapiol (66,26 %) foi o constituinte majoritário. Todos os OEs apresentaram atividade antifúngica frente aos fungos em estudo, no entanto cada óleo apresentou comportamento diferente para cada espécie fúngica. O OE de *P. gaudichaudianum* foi o que apresentou maior atividade antifúngica, sendo capaz de proporcionar os menores valores de crescimento micelial e os maiores valores de inibição para todos os fungos, impedindo completamente o crescimento de *Pestalotiopsis* spp. e a formação de esporos, o que sugere uma ação fungicida promissora, uma vez que possui alta percentagem de Dilapiol em sua composição. Na sequência, o OE de *N. grandiflora* apresentou um comportamento parecido com o anterior, no entanto com percentagens de inibição menores. A menor atividade antifúngica foi identificada para o OE de *N. megapotamica*. A esporulação foi altamente afetada pelos OEs, sendo que a redução dessa ocorreu de forma proporcional à inibição do crescimento micelial. Com isso, ressalta-se o potencial dos OEs para utilização no controle de patógenos, principalmente o OE de *P. gaudichaudianum* por ter apresentado efeito fungicida.

Palavras-chave: Extrativos vegetais, efeito fungicida, *Fusarium*, *Pestalotiopsis*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Lasiodiplodia*.

ABSTRACT

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS OF FOREST SPECIES

AUTHOR: Vanessa Alba da Silva

SUPERVISOR: Marlove Fatima Brião Muniz.

Forest crops are highly affected by fungal diseases, however the market lacks alternatives to chemicals products to control these pathogens. In this sense, the objective of this work was to evaluate the antifungal activity of different essential oils and their effects on the morphological characteristics of fungi. The tests were conducted in the laboratory with the essential oils extracted from leaves of *Nectandra grandiflora*, *Nectandra megapotamica* and *Piper gaudichaudianum*, and had the chemical constituents identified through gas chromatographic analysis. The fungi of the genus *Fusarium*, *Cladosporium*, *Pestalotiopsis*, *Colletotrichum* and *Lasiodiplodia* were cultivated in Potato Dextrose Agar(PDA) medium, enriched with 1 μ L mL⁻¹ of oil previously diluted in ethanol. The negative control consisted of PDA combined with ethanol, and the positive control consisted of the supplementation of medium with the fungicide Propiconazole, the plates were incubated in controlled conditions at 25 ° C, with photoperiod of 12h. The growth of the colonies was evaluated daily, and after 10 days, was characterized the sporulation, the colony coloration, the spore size and the mode of action of the oils. The variables analyzed were mycelial growth, mycelial growth rate and inhibition of mycelial growth, in a completely randomized design with six replicates. The *N. grandiflora* essential oil (EO) was composed mainly by (+) - Dehydrofukinone (26%), Dehydrofukinone epoxide (12.81%), those of *N. megapotamica* EO by α -Pinene (23,19%), β -Pinene (17,13%), Spathulenol (11,68), and for *P. gaudichaudianum* EO the phenylpropanoid Dilapiol (66,26%) was the major constituent. All EOs presented antifungal activity against fungi under study, however each EO acts differently in each fungal species. The *P. gaudichaudianum* EO showed the highest antifungal activity, being able to provide the lowest values of mycelial growth and the highest inhibition values for all fungi. In addition, it completely prevented the growth of *Pestalotiopsis* spp. and the formation of spores, which suggests a promising fungicidal action, since it has a high percentage of Dilapiol in its composition. Subsequently, the EO of *N. grandiflora* showed a behavior similar to the previous one, however with smaller percentages of inhibition. The lowest antifungal activity was identified for the *N. megapotamica* EO. The sporulation variable was highly affected by EOs, and the reduction of sporulation occurred proportionally to inhibition of mycelial growth. Based on the above, the potential of EOs to be used in disease control is emphasized, especially EO of *P. gaudichaudianum* because it presented a fungicidal effect.

Key-words: Vegetable extracts, fungicidal effect, *Fusarium*, *Pestalotiopsis*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Lasiodiplodia*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1– Número de acesso ao GenBank, gênero, órgão afetado, hospedeiro e fonte dos isolados fúngicos utilizados na realização deste trabalho.....	29
Tabela 2– Composição química do óleo essencial (Pool) extraído de folhas de <i>Nectandra grandiflora</i>	34
Tabela 3– Composição química do óleo essencial (Pool) extraído de folhas de <i>Nectandra megapotamica</i>	35
Tabela 4– Composição química do óleo essencial (Pool) extraído de folhas e órgãos reprodutivos de <i>Piper gaudichaudianum</i> Kunth.....	37
Tabela 5– Crescimento micelial (mm) de cinco gêneros fúngicos em meio batata-dextrose-água (BDA) acrescido de 1µL mL ⁻¹ de óleo essencial de <i>Nectandra grandiflora</i> (OE1), <i>N. megapotamica</i> (OE2), <i>Piper gaudichaudianum</i> (OE3), etanol (CN) e fungicida comercial Propiconazole (CP).	39
Tabela 6– Taxa de crescimento micelial diária (mm.dia ⁻¹) de cinco gêneros fúngicos em meio batata-dextrose-água (BDA) acrescido de 1µL mL ⁻¹ óleo essencial de <i>Nectandra grandiflora</i> (OE1), <i>N. megapotamica</i> (OE2), <i>Piper gaudichaudianum</i> (OE3), etanol (CN) e fungicida comercial Propiconazole (CP).	41
Tabela 7– Esporulação (x 10 ⁶ esporos/ml) de quatro gêneros fúngicos em meio batata-dextrose-água (BDA) acrescido de 1µL mL ⁻¹ de óleo essencial de <i>Nectandra grandiflora</i> (OE1), <i>N. megapotamica</i> (OE2), <i>Piper gaudichaudianum</i> (OE3), etanol (CN) e fungicida comercial Propiconazole (CP).	44
Tabela 8– Modo de ação dos óleos essenciais de <i>Nectandra grandiflora</i> (OE1), <i>N. megapotamica</i> (OE2) e <i>Piper gaudichaudianum</i> (OE3), sobre oito espécies fúngicas.....	46
Tabela 9– Comprimento (µm) de esporos de quatro gêneros fúngicos sobre ação de 1µL mL ⁻¹ de óleo essencial de <i>Nectandra grandiflora</i> (OE1), <i>N. megapotamica</i> (OE2), <i>Piper gaudichaudianum</i> (OE3), etanol (CN) e fungicida comercial Propiconazole (CP).	48
Tabela 10– Largura (µm) de esporos de quatro gêneros fúngicos sobre ação de 1µL mL ⁻¹ de óleo essencial de <i>Nectandra grandiflora</i> (OE1), <i>N. megapotamica</i> (OE2), <i>Piper gaudichaudianum</i> (OE3), etanol (CN) e fungicida comercial Propiconazole (CP).	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1– Exemplar de <i>Nectandra megapotamica</i> fora da floresta.....	24
Figura 2– Detalhes das folhas e frutos de <i>Nectandra grandiflora</i>	25
Figura 3– Características botânicas de <i>Piper gaudichaudianum</i> . A: exemplares da espécie no sub-bosque da floresta; B: espigas; C: folhas; D: entrenós do caule/ramos.	27
Figura 4– Clamidósporos desenvolvidos pelo patógeno <i>Cladosporium subuliforme</i> na presença do óleo essencial de <i>Piper gaudichaudianum</i>	45
Figura 5– Ação do óleo essencial de <i>Nectandra grandiflora</i> (OE1) e <i>Nectandra megapotamica</i> (OE2) sobre os conídios de <i>Pestalotiopsis</i> spp.	47
Figura 6– Coloração do micélio aéreo de 5 gêneros fúngicos obre ação de 1µL mL ⁻¹ de óleo essencial de <i>Nectandra grandiflora</i> (OE1), <i>N. megapotamica</i> (OE2), <i>Piper gaudichaudianum</i> (OE3), etanol (CN).	50

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 FUNGOS CAUSADORES DE DOENÇAS EM ESPÉCIES FLORESTAIS.....	16
2.1.1 Gênero <i>Cladosporium</i> spp.	16
2.1.2 Gênero <i>Colletotrichum</i> spp.....	17
2.1.3 Gênero <i>Pestalotiopsis</i> spp.	18
2.1.4 Gênero <i>Fusarium</i> spp.	19
2.1.5 Gênero <i>Lasiodiplodia</i> spp.	20
2.2 ÓLEOS ESSENCIAIS.....	21
2.2.1 Óleos essenciais produzidos por espécies florestais	23
2.2.2 Atividade antifúngica dos óleos essenciais	28
3 MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1 ESTRUTURA LABORATORIAL E ISOLADOS FÚNGICOS	29
3.2 CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS.....	30
3.3 ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES FLORESTAIS NO CONTROLE DE FUNGOS FITOPATOGENICOS	31
3.3.1 Atividade antifúngica	31
3.3.2 Formação de esporos	32
3.3.3 Morfologia de esporos	32
3.3.4 Viabilidade de esporos	33
3.3.5 Análise estatística.....	33
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS	34
4.2 ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES FLORESTAIS NO CONTROLE DE FUNGOS FITOPATOGENICOS	38
4.2.1 Atividade antifúngica	38
5 CONCLUSÕES	53
REFERÊNCIAS	54

1 INTRODUÇÃO

O cultivo de espécies florestais é afetado pela alta incidência de doenças que interferem na germinação das sementes, no desenvolvimento das mudas em viveiro e no estabelecimento a campo, sendo um fator limitante para a produção. Dentre os principais agentes responsáveis pelas doenças em espécies florestais, estão os fungos, capazes de ocasionar o tombamento de mudas, manchas foliares, podridão radicular e do caule, cancro no tronco e marchas vasculares. Com o ataque dos patógenos, o potencial de crescimento das plantas diminui, podendo ocorrer a perda de grande número de indivíduos, além da redução no valor da madeira, produto final (GRIGOLETTI JÚNIOR et al., 2006; LAZAROTTO et al., 2018).

No ano de 2017, a agricultura Brasileira utilizou 540 mil toneladas de ingredientes ativos de agrotóxicos, gerando um aumento de cerca de 50% em relação ao ano de 2010, conforme os dados do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). Diante deste uso excessivo e inaquedado de produtos químicos para o controle de doenças em plantas, a sociedade tem prezado pela conscientização dos problemas ocasionados e dos riscos que estes representam. Com isso, os estímulos para o uso de produtos não sintetizados e biológicos tem sido crescente.

No Brasil, atualmente são escassos os produtos químicos que possuem registro no Ministério da Agricultura para utilização no controle de doenças em espécies florestais, estando disponíveis apenas para um número reduzido de doenças em espécies cultivadas em grande escala, como eucalipto e *Hevea brasiliensis*. Fato esse que ressalta a importância da utilização de métodos de manejo integrado, aliando-se às práticas culturais, o uso de produtos biológicos e de extrativos vegetais, visto que podem ser medidas eficientes e de menor toxicidade aos seres humanos e meio ambiente. Além de impulsionar a realização de pesquisas que busquem identificar novos produtos de origem natural.

Nesse sentido, extratos e óleos essenciais (OEs) extraídos de plantas surgem como fontes de substâncias naturais a serem exploradas, uma vez que possuem em sua composição princípios ativos derivados do metabolismo secundário, com capacidade de desencadear a ação fungistática, fungitóxica ou fungicida frente a inúmeros gêneros fúngicos. Portanto, os óleos essenciais representam uma potencial forma de manejo de doenças, sendo capazes de impedir a sobrevivência e a reprodução desses patógenos nas plantas hospedeiras.

Os óleos essenciais podem ser produzidos por diversas plantas, entre elas destaca-se a espécie *Piper gaudichaudianum*, que teve o efeito fungicida descrito frente aos fungos *Candida neoformans* e *Candida krusei* (PUHL et al., 2011). Recentemente, o óleo essencial extraído de

folhas de *Nectandra megapotamica* e *Nectandra grandiflora* tiveram o seu efeito biológico descrito, sendo que o OE de *N. megapotamica* apresentou atividade antimicrobiana, reduzindo o desenvolvimento da bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus*, já o OE de *N. grandiflora* demonstrou efeito antifúngico satisfatório ao impedir completamente o crescimento micelial do fungo *Trametes versicolor*, responsável por ocasionar a podridão-branca na madeira (BRITTO, 2009; BIANCHINI, 2017; SILVA et al., 2016). No entanto, ainda são pouco conhecidas as propriedades biológicas dos óleos essenciais presentes em espécies dos gêneros *Nectandra* e *Piper* frente a fungos fitopatogênicos.

No entanto, ao investigar a atividade biológica expressa pelos OEs é imprevisível que se realize a identificação da composição química, antes mesmo de utilizá-lo, uma vez que os constituintes químicos estão diretamente relacionados com as atividades. Além disso, na composição química dos OEs podem ocorrer diversas variações, uma vez que a composição é definida pela genética da planta, que pode sofrer influência da fenologia e de fatores ambientais externos, como o clima, época de coleta e método de extração (BELTRAME et al., 2010; SHARIFI-RAD et al., 2017).

Os mecanismos de inibição dos óleos essenciais sobre o patógeno podem ser de forma indireta, através de mudanças enzimáticas desencadeadas pelos extrativos, ou de forma direta, impedindo o desenvolvimento do patógeno, por meio da ação sobre a germinação de esporos, crescimento micelial e pela alteração do metabolismo celular dos microrganismos. Para que seja possível desenvolver produtos naturais com ação fungicida, é necessário conhecer a forma como os óleos essenciais atuam sobre as estruturas fúngicas e demais características morfofisiológicas. Com base no exposto, é de suma importância a realização de pesquisas que busquem caracterizar a atividade antifúngica dos óleos essenciais, possibilitando assim, o desenvolvimento de produtos naturais, eficazes e ambientalmente seguros para o controle de fitopatógenos.

O presente trabalho teve como objetivo geral avaliar a atividade antifúngica de óleos essenciais extraídos de espécies florestais, sobre o crescimento *in vitro* de fungos fitopatogênicos.

Para isso, os seguintes objetivos específicos foram traçados:

- Investigar a ação antifúngica de óleos essenciais extraídos de *Nectandra megapotamica* (Spreng) Mez, *Nectandra grandiflora* Nees & Mart. ex Nees e *Piper gaudichaudinum* Kunth sobre fungos dos gêneros *Fusarium*, *Colletotrichum*, *Cladosporium*, *Pestalotiopsis* e *Lasiidiplodia*;

- Caracterizar a atuação destes óleos na formação e na dimensão de esporo, bem como na viabilidade;
- Verificar a ocorrência de alterações na coloração das colônias fúngicas e no crescimento micelial final;
- Identificar e quantificar os componentes químicos dos óleos essenciais em estudo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FUNGOS CAUSADORES DE DOENÇAS EM ESPÉCIES FLORESTAIS

2.1.1 Gênero *Cladosporium* spp.

O gênero *Cladosporium* spp. é um dos maiores e mais heterogêneos gêneros de *Hyphomycetes*, foi estabelecido por Link, em 1816 (DUGAN et al., 2004), possui 735 espécies registradas válidas na literatura, as quais apresentam 73 variedades (INDEX FUNGORUM, 2017), no Brasil se tem a ocorrência de 26 espécies de *Cladosporium* (EMBRAPA, 2010). Os fungos do gênero *Cladosporium* são capazes de sobreviver de forma biotrófica ou necrotrófica, ou até mesmo passar por períodos de senescência, além disso apresentam larga distribuição ecológica mundial, podendo se desenvolver em qualquer tipo de substrato e em uma ampla diversidade de hospedeiros (BENSCH et al., 2012). Desta forma, o gênero *Cladosporium* apresenta um alto impacto econômico e social, sendo que algumas espécies produzem micotoxinas que causam doenças em seres humanos e animais (BENSCH et al., 2012; FUENTES, BOSCH, 1960).

As espécies de *Cladosporium* conhecidas por serem patógenos de plantas, geralmente atacam a parte aérea, com maior incidência nas folhas e caules, causando manchas foliares entre outras lesões (BARBOSA et al., 2009). Além disso, o gênero *Cladosporium*, é comumente relatado associado as sementes durante o armazenamento, podendo causar sérios danos na germinação e no vigor, além de servir como fonte de introdução do patógeno em áreas isentas, resultando em grandes prejuízos (ZUCCHI, MELO, 2009).

No Brasil, o patógeno *C. perangustum* foi identificado como responsável pela ocorrência de manchas foliares em *Syagrus oleracea* (Mart.) Becc., palmeira nativa (OLIVEIRA et al., 2014). Para a espécie *Carya illinoensis*, conhecida popularmente como noqueira-pecã, diversas doenças já foram diagnosticadas, como é o caso da mancha foliar de cladosporium, causada por fungos do complexo *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) de Vries. Os sintomas iniciam com pequenas lesões em folhas, ramos e frutos, se expandem e coalescem, podendo ocasionar a desfolha, abortamento e diminuição da qualidade dos frutos e, conseqüentemente, da produtividade (WALKER et al., 2016). Nos Estados Unidos, esta doença também é conhecida como sarna da noqueira-pecã causada por *Fusicladium effusum* G. Winter (syn. *Cladosporium carygenum*), sendo considerada a doença mais devastadora da cultura (BOCK et al., 2017).

A cladosporiose ocasionada por *Cladosporium cladosporioides* se destaca dentre as doenças de maior importância para a cultura do maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims), podendo atacar toda a parte aérea da planta, incluindo folhas, flores e frutos. Além de ser caracterizada como uma importante doença de pós-colheita em frutos de maracujá e pêssego (FISCHER et al., 2009; MARTINS et al., 2006).

Dentre as doenças já relatadas em seres humanos provocadas por *Cladosporium* spp., se encontram uma variedade de infecções clínicas, como as infecções de pele e das unhas, sinusite e infecções pulmonares. Quando não tratadas adequadamente, podem gerar graves problemas respiratórios (RIVAS; THOMAS, 2005).

2.1.2 Gênero *Colletotrichum* spp.

O gênero *Colletotrichum* spp. Corda (Teleomorfo: *Glomerella* spp. Stonem.) foi identificado em 1831, sendo caracterizado por frutificações setosas, denominadas acérvulos, nas quais conídios hialinos são produzidos em massa alaranjada ou creme. As espécies de *Colletotrichum* são encontradas nas formas saprofiticas e patogênicas, sendo as espécies patogênicas responsáveis por doenças economicamente importantes em âmbito mundial, com ocorrência em uma grande gama de hospedeiros (MENESES, 2006). Dentre as diversas doenças ocasionadas por fungos do gênero *Colletotrichum*, pode-se citar a antracnose como uma das principais, seguida da podridão de pedúnculo e da varicela em mamão (BAILEY; JEGGER, 1992).

Na cultura do milho, a antracnose do colmo é considerada uma das principais doenças com potencial de reduzir a produtividade, sendo causada pelo fungo *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. Este fungo apresenta ampla distribuição nos cultivos, acarretando a morte prematura das plantas, além de reduzir a qualidade e o peso dos grãos (COTA et al., 2012). Nos cultivos de feijão, o fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc e Magnus) é responsável por causar a antracnose do feijão, uma das principais doenças da cultura. Quando a ocorrência do patógeno se dá precocemente, as perdas atingem toda a área cultivada, em fases mais avançadas, as manchas nos grãos acabam depreciando o produto final e acarretando perdas na produção (COSTA et al., 2016).

Os fungos do gênero *Colletotrichum* são responsáveis por ocasionar a antracnose em frutos, esta doença é considerada uma das mais importantes na fase de pós-colheita, devido as perdas acarretadas na produção e a depreciação dos frutos, em uma grande gama de hospedeiros (PLOETZ, 2003). Entre as principais culturas afetadas por *Colletotrichum* spp. na fase de pós-

colheita estão a mangueira (*Mangifera indica* L), o abacateiro (*Persea americana* Mill.), o mamoeiro (*Carica papaya* L), o maracujazeiro (*Passiflora edulis*) e a soja (*Glycine max* L.) (PEGG et al., 2002; LIBERATO, TATAGIBA, 2001; FISCHER et al., 2005; FISCHER et al., 2011). A antracnose causada por *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) é considerada a principal doença para a cultura da mangueira, essa doença ocorre em todas as áreas de produção de manga do mundo (FISCHER et al., 2005).

A antracnose, causada por *Colletotrichum* spp. é uma doença importante, podendo afetar folhas e ramos em todas as fases de desenvolvimento da planta. No Brasil, houve grande incidência de *C. gloeosporioides* agente causal da antracnose em eucalipto, principalmente em clones híbridos suscetíveis, como de *Eucalyptus grandis* W. Hill Ex Maiden, *E. pellita* Mell., *E. urophylla* S. T. Blake, *E. viminalis* e *E. deglupta* Blum (ALFENAS et al., 2009). Também há relatos da associação de *C. gloeosporioides*, causando antracnose, em outras mirtáceas, como araçá (*Psidium cattleianum*) (RASEIRA; RASEIRA, 1996), goiaba-serrana (*Acca sellowiana* (Berg) Burret) (DUCROQUOT et al., 2000) e goiaba (*Psidium guajava* L.) (KIMATI et al., 2005). Recentemente, Rabuske et al. (2018) relataram o patógeno *C. gloeosporioides* como agente causal da antracnose em *Cassia fistula*, sendo que os sintomas iniciavam com pequenas manchas, que progrediam e acabavam coalescendo, acarretando a queda prematura das folhas.

2.1.3 Gênero *Pestalotiopsis* spp.

Os fungos do gênero *Pestalotiopsis* (sinonímia: *Pestalotia*) pertencem à subdivisão Deuteromycotina, Classe Coelomycetes e ordem Melanconiales, são considerados cosmopolitas e são encontrados na forma saprofítica, fitopatogênica e endofítica. Os conídios ou esporos de reprodução são formados por picnídios ou acérvulos, apresentam quatro septos transversais com três secções intermediárias pigmentadas e as duas células das extremidades são hialinas, estando presente na extremidade apical do conídio dois ou três apêndices filiformes. Já os conidióforos são curtos e simples, em acérvulos circulares supepidermais e escuros. Esse fungo costuma causar manchas em folhas e grãos de grande variedade de plantas (CARDOSO, 1978; KARAKAYA, 2001).

No Hawaii, Keith et al. (2006) encontraram várias espécies de *Pestalotiopsis*, tais como *P. clavispota*, *P. microspora* e *P. disseminata*, associadas a manchas foliares e verrugoses em frutos de goiabeira (*Psidium guajava*). Na Europa, recentemente o fungo *P. clavispota* foi relatado ocasionando cancro do tronco e dieback em arbustos de *Vaccinium* spp. (BARRERO

et al., 2018). O mesmo patógeno foi relatado como causador de podridão de raiz em *Vaccinium corymbosum* L (XUE et al., 2018).

No Brasil, as espécies de *Pestalotiopsis* possuem ocorrência em quase todos os estados, sendo relatado ocasionando manchas foliares, em várias espécies florestais e frutíferas, como *Morus nigra*, *Hevea brasiliensis*, *Eucalyptus urophylla* entre outras (FARR et al., 2012; MENDES et al., 1998; UENO, 2008). No Estado do Rio Grande do Sul, pomares de nogueira-pecã tiveram uma alta taxa de incidência de *Pestalotiopsis clavispora* atingindo cerca de 80% das plantas, sendo este fungo o agente causal da mancha de pestalotiopsis. Esta doença pode provocar a desfolha intensa e a redução da área fotossintética ativa, consequentemente reduzindo a produção dos frutos, de forma indireta (LAZAROTTO et al., 2012; LAZAROTTO et al., 2014a).

2.1.4 Gênero *Fusarium* spp.

O gênero *Fusarium*, conforme INDEX FUGORUM (2017) pertence à família Nectriaceae, ordem Hypocreales, classe Sordariomycetes e pode ser encontrado no solo, principalmente em locais de climas tropicais e subtropicais. Os fungos deste gênero conseguem sobreviver por longos períodos no solo, possibilitando que uma diversidade de espécies habite o complexo sistema solo. Nesse ambiente o surgimento de variabilidade genética dentro do gênero *Fusarium* é bastante amplo (MILANESI, 2009).

O gênero *Fusarium* apresenta uma grande diversidade de espécies, sendo considerado um dos grupos de patógenos de maior importância, com capacidade de ocasionar grandes danos a agricultura e horticultura mundial. Dentro deste gênero fúngico é possível encontrar fungos saprófitas, produtores de micotoxinas, e patógenos de inúmeras culturas, inclusive já relatado ocasionando doenças em seres humanos (BURGESS et al., 1997; SUMMERELL et al., 2010; KARLSSON et al., 2016).

Os fungos *Fusarium graminearum* Schwein e *F. oxysporum* foram relatados por Dean et al., (2012), entre os cinco patógenos mais importantes científica e economicamente. *F. graminearum* possui um papel econômico importante na agricultura e na indústria de alimentos, devido as perdas em decorrência das seguintes doenças causadas: podridão parda de *Fusarium* na cevada e no trigo, podridão de colmo e podridão da espiga de milho (DWEBBA et al., 2017).

A fusariose causada pelo fungo *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, destaca-se como causadora da podridão radicular e murcha vascular, ocasionando grandes perdas nos campos de produção mundiais, sendo considerada uma das

principais doenças do feijoeiro (BURUCHARA; CAMACHO, 2000). Na cultura da soja, *Fusarium oxysporum* f.sp. *glycines* é conhecido como o causador da murcha do fusarium e *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* é responsável pela murcha do fusarium na cultura do tomateiro (MICHEREFF et al., 2005). Já o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (E.F. Smith), é o grande responsável pelo mal-do-Panamá ou murcha de Fusarium da bananeira, sendo esta uma das principais doenças da bananicultura no mundo (CORDEIRO et al., 2005). As principais doenças causadas por *Fusarium solani* são: a podridão-radicular-vermelha em soja, a podridão do caule em café e a podridão de fusário em *Citrus* sp. (MICHEREFF et al., 2005).

Na área florestal, os fungos do gênero *Fusarium* spp. são amplamente conhecidos pelas perdas ocasionadas em viveiros e a campo, dentre as principais doenças relatadas destacam-se as podridões radiculares e o “*damping-off*”. Doenças essas, que acometem as espécies de *Pinus* spp. e *Eucalyptus* spp. cultivadas no Brasil, além de outras espécies importantes para o setor florestal (KRUGNER et al., 2005). *Fusarium* spp. é considerado patógeno de sementes, e sua transmissão via semente para a plântula já foi verificada em sementes de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia*) e ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa*) (BOTELHO et al., 2008). Segundo Maciel et al. (2017) em plântulas de *Pinus elliottii* os principais sintomas observados foram murcha, tombamento, apodrecimento dos cotilédones e lesão seguida de ruptura do hipocótilo, em decorrência da contaminação das sementes com *F. verticillioides* e *F. oxysporum.k*.

Fusarium equiseti e *F. oxysporum* foram relatadas como sendo patogênicas à *Carya illinoensis*, os sintomas foram observados principalmente em plântulas nos viveiros, as quais apresentavam murcha e necrose foliar, devido à podridão das raízes. Esses patógenos podem ocasionar grandes perdas de mudas em viveiros comerciais, e apresentam um risco para as plantas estabelecidas caso as mudas contaminadas sejam levadas a campo (LAZAROTTO et al., 2014b). Em plantas de *Tectona grandis* foi relatada uma grande incidência de *Fusarium oxysporum*, acarretando podridão nas raízes e conseqüentemente a morte das plantas a campo (ARGUEDAS et al., 2004).

2.1.5 Gênero *Lasiodiplodia* spp.

O gênero *Lasiodiplodia* está incluso na família *Botryosphaeriaceae*, os fungos que compõem esta família podem ser encontrados na forma saprofítica, patogênica ou ainda como endofíticos. As espécies de *Lasiodiplodia* são altamente agressivas e pouco específicas, podendo atacar diversos gêneros de plantas, sendo conhecidas por ocasionarem a morte

descendente em plantas cultivadas no Brasil e no mundo (SLIPPERS; WINGFIELD, 2007; PHILLIPS et al., 2013).

O patógeno *Lasiodiplodia theobromae* é o responsável por ocasionar die-back, ou a “morte regressiva” do abacateiro (*Persea americana*), inicialmente os tecidos afetados secam e avançam para os galhos e fuste, com isso ocorre a desfolha, e posteriormente morte da planta (RONDON; GUEVARA, 1984). Nos plantios de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), o fungo *L. theobromae* é o causador da podridão-preta das-hastes e resinose, sendo estas as duas principais doenças da cultura (CARDOSO et al., 2007). *Lasiodiplodia* spp. é capaz de ocasionar diversas doenças como: a podridão do caule e a gomose em *Mangifera indica* (SHAHBAZ et al. 2009); a morte do pedúnculo em *Carica papaya* (LIMA et al., 2013); cancos e die-back em povoamentos de eucalipto do mundo todo (SANKARAN et al., 1995; ROUX et al., 2001), além de ser encontrado associado a diversas sementes.

Em sementes e plântulas de *Pinus* spp., o patógeno *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon e Maubl. (syn. *Botryodiplodia theobromae* Pat.) foi identificado causando podridão de sementes e redução significativa no potencial germinativo, além de interferir no desenvolvimento das plântulas (MACIEL et al., 2015). No Rio Grande do Sul, o fungo *L. subglobosa* acarretou a morte de plantas de *C. illinoensis*, sendo registrada a morte de 100% das plantas sintomáticas. Inicialmente as plantas apresentaram pequenas lesões que progrediam para cancro e, ao realizar cortes longitudinais no tronco, próximo aos tecidos foi caracterizada a presença de estrias escuras e necrose (POLETTTO et al., 2016).

2.2 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais (OEs) são produzidos pelas plantas como mecanismo de sobrevivência e podem ser definidos como substâncias voláteis com baixo peso molecular. Em temperatura ambiente apresentam aspecto oleoso, tendo como principal característica a volatilidade e baixa solubilidade em água (SAITO; SCRAMIN, 2000). Os OEs na maioria das vezes são produzidos por estruturas secretoras especializadas, como glândulas, células parenquimáticas diferenciadas, canais oleíferos ou em bolsas específicas (SIMÕES; PITZER, 2004), que podem estar presentes nas flores, folhas, frutos, madeira, casca, raízes, rizomas e sementes (VITTI; BRITO, 2003). Esses metabólitos secundários possuem uma importante função ecológica, atuando como inibidores da germinação, na proteção contra predadores, na atração de polinizadores, na proteção contra perda de água e aumento da temperatura (SIMÕES; SPITZER, 2000).

Tendo em vista a definição química, os OEs são definidos como misturas heterogêneas e complexas, que podem ser constituídos por mais de 120 componentes de classes químicas diferentes, geralmente provenientes das vias isoprenoide e fenilpropanoide, sendo constituídos principalmente de monoterpenoides e sesquiterpenoides, podendo ocorrer também derivados fenilpropanoides. Estes componentes estão disponíveis em diferentes concentrações, mas se restringe a apenas dois ou três componentes a composição majoritária, os quais conseguem desenvolver importante papel na proteção das plantas contra o ataque de patógenos e insetos. Grande parte destes mecanismos de ação apresentados pelos óleos essenciais deve-se a sua característica lipofílica, que permite a passagem do OE na parede celular e na membrana citoplasmática, rompendo a estrutura de diferentes camadas e modificando assim a permeabilidade dessas organelas (BAKKALI et al., 2008; BRUM, 2012; MAIA et al., 1998; SHARIFI-RAD et al., 2017).

No entanto, a composição química dos óleos essenciais é definida pela genética da planta produtora e suas possíveis variações fenológicas, além de estar propensa a modificações ocasionadas por fatores intrínsecos dos locais onde as plantas são produzidas, como temperatura, luminosidade, umidade, tipo de solo e condições nutricionais. Concomitantemente, as características quali-quantitativas dos óleos essenciais podem sofrer alterações conforme o órgão vegetal coletado, o método de extração a ser utilizado e a aplicação do método de secagem prévia (BELTRAME et al., 2010; GOBBO-NETO; LOPES, 2007; SARTOR, 2009; SHARIFI-RAD et al., 2017).

Durante muito tempo, os óleos essenciais eram vistos como um resíduo do metabolismo das plantas ou ainda um “desperdício fisiológico” (GANG, 2005; SIMÕES; SPITZER, 2004). Porém atualmente, o OE é considerado um dos produtos do metabolismo vegetal com maior potencial a ser pesquisado e explorado pela indústria. Adicionalmente, acredita-se que a formulação de produtos comerciais a partir de extratos vegetais e óleos essenciais é uma excelente forma de se aplicar os compostos bioativos, impedindo assim que sejam inutilizados, além de permitir a elaboração de produtos naturais para o controle de doenças em plantas (BORGES et al., 2018). Dentre as atividades biológicas já descritas para OEs encontram-se as ações inseticidas, fumigantes e fungicidas (ISMAN, 2000), além da atividade inseticida (FAZOLIN et al., 2007), evidenciando assim o papel promissor que esses compostos apresentam no que tange ao controle e prevenção de pragas e doenças.

2.2.1 Óleos essenciais produzidos por espécies florestais

Na literatura, são encontrados relatos de diversas espécies vegetais que são capazes de produzir óleo essencial, mistura de compostos esta que pode apresentar inúmeras atividades biológicas e ser utilizada no controle de doenças em plantas. Diante da riquíssima biodiversidade de espécies vegetais encontradas no Brasil, este se torna um campo a ser melhor explorado, uma vez que muitos componentes químicos e óleos essenciais, com potencial atividade antifúngica ainda não foram estudados.

Os óleos essenciais podem ser encontrados em cerca de 50 famílias, com rara ocorrência em Gimnospermas (exceção para a família Pinaceae), e baixa em Angiospermas Monocotiledôneas (exceção para as famílias Cyperaceae e Poaceae). Dentre as Angiospermas Eudicotiledôneas, estão incluídas as famílias Apiaceae, Asteraceae, Fabaceae, Lamiaceae, Myrtaceae, Oleaceae, Rosaceae e Rutaceae. Entre as Angiospermas Magnoliídeas, citam-se as famílias Lauraceae e Piperaceae, ambas conhecidas por possuírem propriedades biológicas relacionadas à presença de OE. Porém, devido à grande diversidade de espécies, na maioria das vezes não se tem uma caracterização específica da ação do óleo essencial frente a fungos fitopatogênicos (BRUNETON, 2001; FIGUEIREDO et al., 2008; SIMÕES; SPITZER, 2004).

2.2.1.1 *Nectandra megapotamica*

A família Laureceae destaca-se por possuir uma vasta quantidade de espécies nativas do Brasil, entre elas está a *Nectandra megapotamica* (Spreng) Mez e *Nectandra grandiflora* Nees & Mart. ex Nees (LORENZI; SOUZA, 2008). No Brasil, podem ser encontrados 22 gêneros desta família, ocorrendo em grande parte nas Florestas Pluviais, assim como nas Restingas e nos Cerrados (BARROSO et al., 2002), com cerca de 400 espécies (LORENZI; SOUZA, 2008).

A espécie *Nectandra megapotamica* (Figura 1), conhecida popularmente por “canela-preta”, pode estar presente desde o sul de Minas Gerais até o Rio Grande do Sul e também no Mato Grosso do Sul (LORENZI, 2002; REITZ et al., 1988). Apresenta ampla faixa de distribuição nas florestas nativas do Rio Grande do Sul (BRENA; LONGHI, 2002; TONINI et al., 2003), fazendo parte da composição da Floresta Ombrófila Mista, Floresta Ombrófila Densa, Floresta Estacional Semidecidual e Decidual (MARCHIORI, 1997). As árvores de *N. megapotamica* podem atingir entre 15-25 metros de altura, com circunferência do tronco de 40-60 cm de diâmetro, a madeira possui alta resistência e um aroma forte. Entre os meses de junho

e setembro ocorre a floração, os frutos amadurecem de novembro a janeiro e servem como fonte de alimento aos pássaros (LORENZI, 2002).

Figura 1– Exemplar de *Nectandra megapotamica* fora da floresta.



Fonte: Adaptado de LORENZI, 2002.

Na literatura são encontrados relatos de que o OE de *Nectandra megapotamica* possui potencial antibacteriano frente à bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* e atividade antifúngica frente a *Aspergillus niger* (BRITTO, 2009; BARNECHE et al., 2010), além de apresentar propriedades anti-inflamatórias (APEL et al., 2006). A atividade alelopática deste OE, foi observada em alface e aveia-preta, que são espécies bioindicadoras de alelopatia, por meio da redução do percentual de germinação de sementes e do crescimento de plântulas (AMARAL, 2014). Em trabalho realizado por Tondolo et al. (2013), o OE de *N. megapotamica* apresentou uma ação anestésica em robalo-peva (*Centropomus parallelus*), sendo observado o efeito de sedação leve e anestesia profunda.

2.2.1.2 *Nectandra grandiflora*

A espécie *Nectandra grandiflora* é predominantemente encontrada nos biomas Mata Atlântica e Cerrado, entre os estados de Minas Gerais e Rio Grande do Sul (QUINET et al., 2010). A espécie é popularmente conhecida como canela-amarela, canela-fedida ou canela-cheirosa, é uma planta heliófila e secundária, sendo considerada uma espécie com boa regeneração dentro da floresta (LORENZI, 2002; PIZZATO, 1999).

As árvores de *Nectandra grandiflora* são consideradas de porte pequeno, atingindo entre 10 e 15 metros de altura. A madeira possui um cheiro adocicado e desagradável, no entanto, não chega a ser um odor de excrementos, como ocorre em outras espécies de Lauraceae (LORENZI, 2002; ZANON; GOLDENBERG; MORAES, 2009). Esse cheiro característico também se manifesta nas folhas, flores e na casca. A frutificação da espécie (Figura 2) ocorre de janeiro a março, e a floração entre os meses de agosto a outubro, contendo flores abundantes de coloração branca e perfumadas (MARCHIORI, 1997; LORENZI, 2002).

Figura 2– Detalhes das folhas e frutos de *Nectandra grandiflora*.



Em estudo realizado por Cunico et al. (2010), a análise da composição química do óleo essencial extraído de folhas de *Nectandra grandiflora* permitiu a identificação de um total de 33 componentes. No entanto, a composição química e a quantidade de óleo produzido pela planta podem sofrer alterações devido a sazonalidade. Ao estudar a influência da sazonalidade no teor de OE de *N. grandiflora*, Silva et al. (2015), indicaram que a coleta das folhas seja realizada durante a primavera para assim obter um maior rendimento.

O efeito antimicrobiano do OE de *N. grandiflora* foi verificado frente as bactérias *S. aureus*, *Plesiomonas shigelloides*, *Acinetobacter calcoaceticus* e *Aeromonas hydrophila*. A atividade antifúngica do OE dessa espécie, foi verificada frente à fungos apodrecedores da madeira (BIANCHINI, 2017; CUNICO et al., 2010; GARLET et al., 2015; SILVA et al., 2016). O OE de *N. grandiflora* é composto majoritariamente por Deidrofuquinona, que ao ser avaliado por Garlet et al. (2016) demonstrou possuir ação sedativa ou anestésica sobre jundiá (*Rhamdia quelen*). Contudo, ainda são pouco estudadas as propriedades biológicas dos óleos essenciais presentes em espécies de *Nectandra*, principalmente quando se refere à atividade antifúngica.

2.2.1.3 *Piper gaudichaudianum*

A espécie *Piper gaudichaudianum* Kunth, conhecida vulgarmente por pariparoba ou jaborandi, é um arbusto de pequeno porte atingindo de 1 a 3 metros de altura, sendo encontrado em todas as regiões do Brasil, bem como no Paraguai e Argentina. A ocorrência da espécie se dá principalmente nas bordas das florestas, e em clareiras que se dão, devido a queda das árvores (GUIMARÃES; VALENTE, 2001). As folhas são curto-pecioladas, membranáceas e possuem a superfície adaxial aspérea. A inflorescência é do tipo espiga, que chega a ter 8 centímetros de comprimento, e floresce durante o ano todo (Figura 3). Já a frutificação, ocorre nos meses de janeiro, março, agosto e de outubro a dezembro (DI STIASI; HIRUMA-LIMA, 2002; BARDELLI et al., 2008). Os frutos servem como fonte de alimentação para morcegos, que acabam dispersando as sementes, as quais possuem facilidade em germinar e se desenvolver, devido a rusticidade da espécie. Característica essa, que possibilita a utilização da espécie em projetos de restauração, sendo amplamente encontrada na Mata Atlântica (TEIXEIRA, 2003).

A espécie apresenta metabólitos secundários bioativos, descritos na literatura como derivados de núcleo cromona e isômeros prenilados derivados do ácido benzóico obtidos do extrato etanólico de folhas, para o qual foi detectada atividade antimicrobiana frente às cepas de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Candida tropicalis* (PUHL et al., 2011). Algumas

atividades biológicas como o efeito inseticida, anti-inflamatório e analgésico já foram descritas para a espécie (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002; LAGO et al., 2004; PARMAR et al., 1997).

Figura 3– Características botânicas de *Piper gaudichaudianum*. A: exemplares da espécie no sub-bosque da floresta; B: espigas; C: folhas; D: entrenós do caule/ramos.



Fonte: SCHINDLER, 2015.

O óleo essencial das folhas *Piper gaudichaudianum* apresentou atividade larvicida frente ao mosquito da dengue (*Aedes aegypti*) (DE MORAIS et al., 2007). Entre os efeitos biológicos, o OE desta espécie apresenta uma alta atividade antifúngica contra *Cryptococcus neoformans* e *Candida krusei* (MORANDIM-GIANNETT et al., 2010). O efeito antifúngico também foi observado para o OE da espécie *P. aduncum*, que foi capaz de inibir 100% o crescimento e a germinação do fungo *Clinipellis pernicioso*, conhecido por ocasionar a destrutiva doença "vassoura-de-bruxa", em plantações de cacau e cupuaçu (BASTOS, 1997). Além disso, o OE de *P. aduncum* possui ação inseticida e larvicida contra insetos fitófagos e mosquitos transmissores de dengue e malária, sendo capaz de promover 100% de controle ao ser utilizado em baixas concentrações (BERNARD et al., 1995; SOUTO, 2006).

2.2.2 Atividade antifúngica de óleos essenciais

As atividades biológicas dos componentes dos óleos essenciais ainda não são bem definidas, em um estudo realizado por Sharifi-Rad et al. (2017), a maioria dos OE foram caracterizados por apresentar capacidade citotóxica satisfatória, como um mecanismo de ação. Ainda, dentre os principais mecanismos que os efeitos citotóxicos dos óleos essenciais causam, pode-se incluir a indução da morte celular pela ativação de processos de apoptose e/ou necrose, bloqueio do ciclo celular, e perda da função das organelas essenciais, além de poderem atuar como antioxidantes.

Alguns autores relatam que as atividades antifúngicas dos óleos essenciais provavelmente são desencadeadas como resultado da penetração do OE na parede das hifas, prejudicando a lipoproteína da membrana citoplasmática, ocasionando o extravasamento do citoplasma, assim como o esvaziamento e desintegração das hifas, e presença de filamentos (CACCIONI; GUIZZARDI, 1994; DOS SANTOS et al., 2013; ZAMBONELLI et al., 1996).

Avaliando a ação do óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) sobre as hifas de *Rhizoctonia solani*, Costa et al. (2011) verificaram algumas alterações morfológicas, tais como a presença de vacúolos, desorganização dos conteúdos celulares, diminuição na nitidez da parede celular, intensa fragmentação e menor turgência das hifas. Contudo, a atividade antioxidante de componentes de estrutura fenólica também pode contribuir para um efeito fungitóxico de extrativos vegetais, como observado em um estudo realizado por Bento et al. (2014), onde relataram a ocorrência de estresse oxidativo nos fungos *Trametes villosa* e *Pycnoporus sanguineus* quando expostos aos extratos de folhas de duas espécies de *Casearia*.

Diante dos diversos mecanismos de ação que os OEs podem apresentar, acredita-se que uma das principais formas de desencadear a interrupção do desenvolvimento fúngico, seja através da capacidade desses componentes de interferir ou romper a integridade das paredes celulares e membranas celulares fúngicas (ISMAN; MACHIAL, 2006). Por ser considerado um dos principais componentes da membrana celular fúngica, o ergosterol é responsável por garantir o funcionamento e a integridade das células, sendo o ponto alvo de atuação dos produtos químicos que visam obstruir a membrana e pode ser considerado um dos alvos de ação dos óleos essenciais. Fato este comprovado, pela inibição da biossíntese do ergosterol que ocorreu ao utilizar-se o OE de *Syzygium aromaticum*, impedindo o desenvolvimento de fungos como *Aspergillus* spp. e *Candida* spp. (AHMAD et al., 2011; KATHIRAVAN et al., 2012; PINTO et al., 2009).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ESTRUTURA LABORATORIAL E ISOLADOS FÚNGICOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Fitopatologia Elocy Minussi, do Departamento de Defesa Fitossanitária da Universidade Federal de Santa Maria (CCR/UFSM) e no Laboratório de Extrativos Vegetais (LABEVE/UFSM). Os isolados utilizados encontram-se depositados na coleção de culturas da Micoteca do Laboratório de Fitopatologia Elocy Minussi e todos possuem o número de acesso no GenBank (Tabela 1).

Tabela 1– Número de acesso ao GenBank, gênero, órgão afetado, hospedeiro e fonte dos isolados fúngicos utilizados na realização deste trabalho.

GenBank	Gênero/Espécie	Órgão afetado	Hospedeiro	Fonte
KC837104	<i>Pestalotiopsis clavispora</i>	Folhas	<i>Carya illinoensis</i>	LAZAROTTO, 2013
KC837105	<i>Pestalotiopsis cocculi</i>	Folhas	<i>Carya illinoensis</i>	LAZAROTTO, 2013
KC810062	<i>Fusarium oxysporum</i>	Raízes	<i>Carya illinoensis</i>	LAZAROTTO, 2013
KC810063	<i>Fusarium equiseti</i>	Raízes	<i>Carya illinoensis</i>	LAZAROTTO, 2013
KT991563	<i>Cladosporium pseudocladosporioides</i>	Folhas	<i>Carya illinoensis</i>	WALKER, 2016
KT995114	<i>Cladosporium subuliforme</i>	Folhas	<i>Carya illinoensis</i>	WALKER, 2016
KT895370	<i>Lasiodiplodia subglobosa</i>	Tronco	<i>Carya illinoensis</i>	POLETTO, 2016
MG065859	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Folhas	<i>Cassia fistula</i>	RABUSKE, 2018

As avaliações para determinar a atividade antifúngica *in vitro* e a ação de diferentes concentrações dos óleos essenciais foram realizadas a partir do *pool* dos OEs obtidos em diferentes épocas de extração. Os óleos essenciais utilizados foram extraídos de folhas de *Nectandra grandiflora* (OE1), *Nectandra megapotamica* (OE2) e *Piper gaudichaudianum* (OE3), os mesmos foram cedidos pelo LABEVE/UFSM, onde foi realizada a análise para a identificação e quantificação dos componentes químicos presentes no *pool* de cada OE.

3.2 OBTENÇÃO DOS ÓLEOS

3.2.1 Extração do óleo essencial de *Nectandra megapotamica* e *Nectandra grandiflora*

Os óleos essenciais de *Nectandra megapotamica* e *N. grandiflora*, foram obtidos em trabalhos realizados por Amaral, (2014) e Silva, (2016), respectivamente. A extração dos OEs se deu por meio da hidrodestilação em triplicata, durante três horas (EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2007; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010), sendo utilizado aparelho tipo Clevenger e uma amostra de 500g de folhas frescas picadas e 3000 mL de água destilada, distribuída em um balão de 5000 mL. Ao final da extração, os OEs foram acondicionados em frascos de vidros âmbar, lacrados e armazenados a -4 °C e ausência de luz, permanecendo nestas condições até o momento da utilização.

3.2.2 Extração OE de *Piper gaudichaudianum*

O óleo essencial de *Piper gaudichaudianum* foi obtido em estudo realizado por Schindler, (2015). Para a extração do OE, folhas frescas e secas foram fracionadas e submetidas a hidrodestilação, em aparelho tipo Clevenger modificado, por três horas, sendo realizada em triplicata (SARTOR, 2009). A extração líquido-líquido com hexano, foi utilizada para separar o OE do hidrolato (SILVA et al., 2009). Na sequência, o OE passou pelo processo de secagem sob sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄). Ao final, o OE obtido foi acondicionado em vidro âmbar e armazenado nas mesmas condições descritas anteriormente.

3.3 CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Os constituintes químicos dos OEs foram identificados por meio da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Inicialmente, uma amostra de 2 µL de óleo essencial foi diluída em 1 mL de hexano, e analisada no sistema hifenado AGILENT 7890A, equipado com um detector seletivo de massas série 5975C (CG-EM), utilizando uma coluna capilar de sílica fundida HP5-MS (30 m x 0,25 mm, espessura de filme: 0,25 mm) e energia de ionização de 70 Ev. As condições consideradas foram as seguintes: taxa de fluxo de 1 mL min⁻¹ e divisão de fluxo de 1:100; o gás carreador foi o hélio; temperatura do injetor e detector de 250 °C; programa de temperatura de 40 °C durante 4 min; 40-320 °C a 4 °C min⁻¹.

A identificação dos componentes químicos dos óleos essenciais foi realizada através da comparação dos índices de retenção, dados por uma curva de calibração de n-alcenos, e os padrões de fragmentação de massas, com os dados encontrados na literatura existente (NIST, 2010; ADAMS, 2009). A quantificação dos componentes químicos dos OEs foi realizada por cromatografia gasosa com detecção por ionização em chama (CG-DIC) através do equipamento Agilent 7890A. Os parâmetros utilizados equivalem aos citados anteriormente, exceto a divisão de fluxo que foi de 1:50, e a temperatura do injetor e detector que foi de 300 °C. A percentagem final dos componentes químicos foi determinada através da normalização de área dos picos.

3.4 ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES FLORESTAIS NO CONTROLE DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

3.4.1 Atividade antifúngica

Os propágulos fúngicos encontravam-se armazenados em tubo eppendorf a base de solução salina (0,9 g NaCl/ 1 litro de água destilada esterilizada) e para a obtenção do inóculo inicial, os mesmos foram transferidos para o meio de Batata-Dextrose-Agar (BDA) e cultivados por sete dias em câmara tipo Biochemical Oxygen Demand (BOD), a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas de luz branca. Após este período, os fungos foram repicados e mantidos nas condições descritas anteriormente, para serem utilizados nos experimentos

A concentração de todos os OEs utilizados foi de $1\mu\text{L mL}^{-1}$, os quais foram previamente diluídos em etanol na proporção 1:1, para assim facilitar a homogeneização no meio de cultura. Alíquotas de OE + Etanol foram adicionadas no meio BDA em estado fundente, e posteriormente o meio de cultura contendo o OE foi vertido para placas de Petri estéril de 90 mm de diâmetro.

O tratamento testemunha foi constituído por placas de petri vertidas somente com meio de cultura BDA, já o controle negativo foi composto pela adição de etanol na mesma concentração utilizada para diluir o OE. Para o controle positivo, o fungicida comercial Propiconazole® foi acrescentado no meio de cultura na concentração de $1,0\mu\text{L mL}^{-1}$. Após a solidificação do meio, um disco de 8 mm de diâmetro, contendo os propágulos fúngicos com sete dias de crescimento foi transferido para o centro das placas, que na sequência, foram incubadas durante sete dias em câmaras tipo BOD ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 12 h de fotoperíodo). Para *Cladosporium* spp. as placas utilizadas foram de 7 cm e o disco de micélio foi de 6 mm de diâmetro, sendo que todos os experimentos foram realizados em triplicata.

O efeito dos diferentes óleos essenciais no crescimento micelial dos fungos, foi avaliado por meio de medições diárias do diâmetro das colônias em dois sentidos perpendiculares, com auxílio de um paquímetro digital, obtendo-se uma média para cada repetição. As medições foram realizadas em média até o sétimo dia, quando o crescimento da testemunha preenchia a placa, exceto para *Cladosporium* spp que possuem um crescimento mais lento e foi avaliado aos 15 dias. Com a média dos resultados obtidos determinou-se o crescimento final, a taxa de crescimento micelial diária (TCM) e a percentagem de inibição do crescimento micelial (ICM). A TCM foi obtida por meio da equação 1,

$$(1) TCM = \frac{Dn}{n}$$

$$(2) ICM (\%) = \frac{[(CT - Ct)*100]}{CT}$$

Onde: Dn = diâmetro da colônia ao final da avaliação e n = dia da última avaliação. Já a percentagem de inibição do crescimento micelial foi obtida por meio da equação 2, onde CT refere-se ao crescimento da testemunha e Ct ao crescimento do tratamento (BADAWY; ABDELGALEIL, 2014).

3.4.2 Contagem de esporos/ esporulação

A atuação dos óleos nas estruturas reprodutivas dos fungos foi avaliada por meio da caracterização dos esporos. Para isso, utilizou-se quatro placas de petri contendo o fungo crescido em meio BDA com OE, aos dez dias de incubação, nas quais foram adicionados 20 mL de água destilada estéril e realizada a raspagem das colônias com o auxílio de uma alça de Drigalski, seguido de filtragem em camada dupla de gaze. Posteriormente, foi acrescentada uma gota de Tween 80 na solução aquosa e colocada para agitar em aparelho vortex. As concentrações estimadas de esporos (esporos.mL⁻¹) de cada placa, foram determinadas a partir da adição de 1 mL da suspensão na câmara de Neubauer.

3.4.3 Morfologia de esporos

A suspensão de esporos obtida conforme descrito no item 3.3.2 foi utilizada para caracterização das dimensões do esporo. Para cada tratamento foram analisados 40 esporos,

para a determinação da largura e do comprimento os esporos foram medidos em microscópio óptico, com micrômetro acoplado, na magnitude de 40 x.

3.4.4 Viabilidade de esporos

O efeito fungistático ou fungicida do óleo essencial sobre o desenvolvimento dos fungos, foi avaliado a partir da transferência de discos de micélio tratados com óleo essencial, na concentração de $1\mu\text{L mL}^{-1}$ para placas de Petri contendo meio BDA nas condições ideais de crescimento (25 ± 2 °C, 12 h de fotoperíodo). As placas foram novamente incubadas, a fim de se observar o crescimento radial das colônias dos fungos fitopatogênicos. Para fins de avaliação, o efeito fungistático foi considerado quando, em contato ao ser transferido para o meio de cultura com o óleo essencial, o fungo parou de crescer, ou teve o crescimento retardado, mas BDA e armazenado nas condições ideais, retomou o crescimento. Já o efeito fungicida, foi considerado quando o fungo não apresentou crescimento em contanto com o óleo e nem ao ser transferido para o meio BDA (COSTA et al., 2011).

A coloração das colônias e do micélio aéreo foram definidas através de análise visual e com o auxílio da Carta de Cores de Munsell (Munsell Soil Color Chart, 2009).

3.4.5 Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema bifatorial (6 Tratamentos x 2 espécies de cada gênero), com seis repetições para cada tratamento, cada repetição foi composta por uma placa. Para os gêneros *Lasiodiplodia* e *Colletotrichum*, foram avaliados apenas uma espécie fúngica. Os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk utilizando o procedimento PROC UNIVARIATE no SAS® 9.1 (SAS Institute, 2002) para confirmar a condição de normalidade. No entanto, os mesmos não assumiram distribuição normal e as médias foram transformadas pela função $\sqrt{x} + 0,5$, sendo x o valor observado. Após, os resultados foram submetidos ao teste ANOVA utilizando o PROC GLM e, as médias foram comparadas utilizando o LSMEANS SCOTTKNOTT ajustado ao nível de significância ($P > 0,05$) no SAS® 9.1 (SAS Institute, 2002).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

A análise da composição química do óleo essencial de *Nectandra grandiflora*, realizada através da CG-EM e da CG-/DIC, permitiu identificar 22 constituintes que representam 91,23% da composição total (Tabela 2). Os componentes detectados em maiores proporções foram: (+)-Deidrofuquinona (26%), Epóxido de deidrofuquinona (12,81%), Kaureno (7,18%), Espatulenol (7,05%) e Valenceno (6,43%). Os resultados do presente trabalho corroboram com Bianchini, (2017), onde os principais componentes identificados foram (+)-Deidrofuquinona (20,52%), Biciclogermacreno (11,80%), Epóxido de deidrofuquinona (8,06%), Valenceno (6,44%), Kaureno (4,93%) e 4,5-di-epi-Aristoloueno (4,32%).

Algumas diferenças na quantidade e nos constituintes químicos identificados no óleo essencial de *N. grandiflora*, podem existir devido a variabilidade genética da planta e a resposta que esta apresenta as condições ambientais externas que estão expostas, como observado, para os OEs de *N. megapotamica* que apresentaram diferentes componentes químicos quando coletados em indivíduos de uma mesma população (AMARAL et al., 2014).

Tabela 2– Composição química do óleo essencial (Pool) extraído de folhas de *Nectandra grandiflora*.

Pico	TR	Componente	IKc	IKref	%
1	10,84	α -Pinoeno	931	932 ^A	1,15
2	12,66	β -Pinoeno	975	974 ^N	0,91
3	17,66	β -Linalol	1099	1098 ^N	0,68
4	20,92	Z-3-Hexenil butirato	1185	1184 ^N	0,72
5	27,97	β -Elemeno	1388	1390 ^A	2,32
6	28,93	<i>E</i> -Cariofileno	1418	1417 ^N	0,93
7	29,72	α -Guaieno	1443	1440 ^N	0,85
8	30,07	α -Cariofileno	1454	1454 ^N	1,13
9	30,53	Aromadendreno	1469	1469 ^N	5,35
10	30,75	Allo-aromadendreno	1476	1477 ^A	2,96
11	31,22	Valenceno	1491	1490 ^N	6,43
12	31,31	α -Selineno	1494	1493 ^N	5,39
13	31,67	Germacreno A	1505	1506 ^N	0,27
14	33,73	Espatulenol	1575	1574 ^N	7,09
15	33,92	Óxido de cariofileno	1581	1581 ^N	0,84
16	35,28	Eremoligenol	1629	1625 ^N	0,74

Continuação...

17	35,97	Epóxido de deidrofuquinona	1653	-	12,81
18	36,25	Selin-11-en-4- α -ol	1663	1659 ^A	0,90
19	40,01	Deidrofuquinona	1801	1807 [*]	26,00
20	40,25	Eremofilan-11-en-10-ol	1811	-	4,94
21	43,26	Rimueno	1930	1934 ^A	1,64
22	45,97	Caureno	2043	2041 ^N	7,18
Total identificado					91,23

TR: Tempo de Retenção; IKc: Índice de retenção de Kovats calculado; IKref: Índice de retenção de Kovats referenciado na bibliografia; A: Adams, 2009; N: Nist, 2010. *Comparado com uma amostra autêntica de DHF do Laboratório de Extrativos Florestais, que foi identificada por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ¹H e ¹³C (SILVA, 2016).

Com a análise da composição química do óleo essencial de *Nectandra megapotamica* foi possível identificar 25 constituintes (Tabela 3), sendo os principais α -Pinene (23,19%), β -Pinene (17,13%), Espatuleno (11,68), Limonene (9,5%) e α -Cariofileno (5,21). Resultados semelhantes foram encontrados por Amaral, (2014), que obteve os seguintes constituintes majoritários: α -Pinene (21,09%), β -Pinene (18,47%), Limonene (8,64%), Espatuleno (5,42) e α -Cariofileno (5,25). Resultados estes, que se diferenciam dos encontrados por Brito (2009), evidenciando assim, a grande quantidade de substâncias químicas que podem ser produzidas pela espécie.

Ainda, Brito (2009) demonstrou que o OE de *Nectandra megapotamica* não foi afetado pela sazonalidade, sua composição química e a quantidade de OE produzidos, não sofrem interferências significativas. Porém, o autor evidencia a grande diversidade de constituintes químicos dos OEs coletados em diferentes indivíduos de *N. megapotamica*, o que justifica as diferenças de resultados, quando comparados com o presente estudo.

Tabela 3– Composição química do óleo essencial (Pool) extraído de folhas de *Nectandra megapotamica*.

Pico	TR	Componente	IKc	IKref	%
1	10,86	α -Pino	931	937 ^N	23,19
2	11,50	Canfeno	946	947 ^N	1,32
3	12,66	β -Pino	974	974 ^N	17,13
4	13,23	β -Mirceno	988	988 ^N	1,57
5	14,62	p-Cimeno	1022	1022 ^N	0,38
6	14,85	Limoneno	1027	1027 ^N	9,50
7	14,90	Eucaliptol	1029	1029 ^N	0,23

Continuação..

8	17,55	β -Linalol	1096	1096 ^A	0,42
9	19,15	Pinocarveol	1138	1137 ^N	1,07
10	20,68	4-Terpineol	1178	1176 ^N	0,21
11	21,23	Mirtenol	1193	1191 ^N	1,47
12	27,52	Copaeno	1374	1374 ^N	2,98
13	27,91	β -Cubebeno	1386	1386 ^N	3,09
14	28,94	Cariofileno	1418	1420 ^N	1,84
15	29,54	Allo- aromadendreno	1437	1438 ^N	1,36
16	30,07	α -Cariofileno	1454	1454 ^N	5,21
17	30,2	Aromadendreno	1458	1455 ^N	2,34
18	31,31	α -Selineno	1493	1488 ^N	3,01
19	33,27	3,7,11-Trimetil dodecatrien-3-ol	1559	1561 ^N	3,23
20	33,74	Espatuleno	1574	1575 ^N	11,68
21	34,01	Globulol	1584	1585 ^N	1,02
22	34,26	Viridiflorol	1592	1595 ^N	1,58
23	35,33	Ereoligenol	1630	1631 ^A	0,37
24	35,69	π -Cadinol	1642	1642 ^N	1,87
25	35,99	δ -Cadinol	1653	1654 ^N	0,36
Total identificado					96,43

TR: Tempo de retenção; IKc: Índice de retenção de Kovats calculado; IKref: Índice de retenção de Kovats referenciado na bibliografia; A: Adams, 2009; N: Nist, 2010.

Na análise da composição química do óleo essencial de *Piper gaudichaudianum* foram identificados 14 componentes (Tabela 4), sendo que o fenilpropanoide Dilapiol (66,26 %) foi o constituinte majoritário, seguido pelos sesquiterpenoides α -Cariofileno (8,13%), Bicyclogermacreno (4,53%) e Isocariofileno (3,38%). Resultados que corroboram, com o trabalho realizado por Schindler e Heinzmann (2017), que relataram o Dilapiol (69,2%) como constituinte majoritário do OE de *P. gaudichaudianum*. Essa composição química do OE de *P. gaudichaudianum* se aproxima da composição descrita para a espécie *Piper permucronatum* Yunck. em Rondônia e *Piper aduncum* L. no Pará e Distrito Federal, em ambas o Dilapiol é o constituinte majoritário, chegando a compor 54,7% do OE (ALMEIDA et al., 2009; MORAIS et al., 2007; POTZERNHEIM et al., 2012).

No entanto, o componente majoritário encontrado em outros trabalhos realizados com o OE de folhas de *Piper gaudichaudianum*, foi o (E)-nerolidol (SPEROTTO, 2012; PÉRES et al. 2009). Apesar de não ter sido encontradas informações, a respeito da existência de

quimiotipos para a espécie *P. gaudichaudianum*, essas divergências encontradas na composição química do OE de plantas da mesma espécie, sugerem a existência de quimiotipos. O que é corroborado por Almeida et al. (2009), que descreveu dois quimiotipos diferentes para a espécie *P. aduncum*, sendo que um é encontrado na Amazônia e possui alto percentual de dilapiol, enquanto o outro é encontrado na Mata atlântica brasileira e é composto majoritariamente por (E)-nerolidol e linalol (ALMEIDA et al, 2009).

Tabela 4– Composição química do óleo essencial (Pool) extraído de folhas e órgãos reprodutivos de *Piper gaudichaudianum* Kunth.

Pico	TR	Componente	IKc	IKref	%
1	28,94	Isocariofileno	1418	1418 ^N	3,38
2	29,53	Aromadendreno	1437	1439 ^N	2,11
3	30,06	α -Cariofileno	1454	1454 ^N	8,13
4	30,49	Iswarano	1467	1466 ^A	3,17
5	30,85	Germacreno D	1479	1481 ^A	1,91
6	31,12	α -Bulneseno	1487	1489 ^N	1,28
7	31,32	Biciclogermacreno	1493	1494 ^N	4,53
8	31,55	α -Cupreneno	1501	1505 ^A	1,83
9	32,02	Miristicina	1517	1523 ^N	1,26
10	33,28	<i>E</i> - Nerolidol	1559	1560 ^N	1,92
11	33,72	Espatuleno	1574	1576 ^N	1,75
12	34,70	Epóxido de Humuleno II	1607	1608 ^A	0,33
13	34,96	Dilapiol	1616	1620 ^A	66,26
14	35,99	τ - Cadinol	1653	1648 ^N	0,71
Total identificado					98,56

TR: Tempo de retenção; IKc: Índice de retenção de Kovats calculado; IKref: Índice de retenção de Kovats referenciado na bibliografia; A: Adams, 2009; N: Nist, 2010

Essa grande variação na composição química do OE de *Piper gaudichaudianum*, se deve ao fato dessa espécie estar amplamente distribuída na natureza, tendo assim contato com condições ambientais distintas que podem acarretar na formação de constituintes diferentes. Dentre os fatores ambientais que interferem na formação dos OEs, pode-se citar: o clima do local, a época de coleta, a temperatura, a incidência solar, o tipo do solo, a disponibilidade de água e ainda a forma de extração (ALMEIDA et al, 2009; POTZERNHEIM et al, 2012).

Contudo, quando se refere a atividade biológica dos OEs, os quimiotipos distintos possuem atividades diferentes, podendo ou não, desencadear a inibição do crescimento fúngico e bacteriano (MARINO et al., 2001). Atividades biológicas do OE de *P. gaudichaudianum*, e

do Dilapiol seu componente majoritário, já foram descritas, evidenciando assim possíveis atividades antifúngicas.

4.2 ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES FLORESTAIS NO CONTROLE DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

4.2.1 Atividade antifúngica

Os resultados obtidos evidenciam a atividade antifúngica dos óleos essenciais em estudo, visto que todos os fungos tiveram o crescimento micelial (Tabela 5) reduzido. Para o crescimento micelial de *Fusarium* spp., foram observadas diferenças significativas entre as espécies *F. equiseti* e *F. oxysporum*, as quais apresentaram diferença no crescimento do tratamento controle negativo (CN), devido às características intrínsecas de cada espécie. No entanto, ao utilizar o óleo de *Piper gaudichaudianum* (OE3) ocorre uma diferença no crescimento quando comparado ao CN, pois *F. equiseti* se mostrou mais sensível à atividade antifúngica. Apesar de naturalmente possuir um crescimento maior, na presença do OE apresentou um crescimento menor (11,36 mm), quando comparado ao *F. oxysporum* (20,47 mm). Resultados semelhantes, foram encontrados para *F. oxysporum* (22,5 mm) quando em contato com o OE de *P. marginatum* (SANTOS et al., 2011).

Para ambas as espécies de *Fusarium* os óleos essenciais reduziram significativamente o crescimento micelial, quando comparado com o controle negativo, sendo o óleo de *P. gaudichaudianum* capaz de promover os menores valores de crescimento micelial final, seguido pelo óleo de *Nectandra grandiflora* (OE1) e por último o óleo de *Nectandra megapotamica* (OE2) que propiciou um crescimento maior. A eficiência da utilização de óleos essenciais no controle de *Fusarium* spp, também foi avaliada por Hashem et al. (2010), que ao analisarem o uso dos OEs de *Cuminum cyminum* L., *Ocimum basilicum* var. *basilicum* L. e *Pelargonium graveolens* L. Her na concentração de 40.000 ppm no controle de *F. oxysporum* e *F. equiseti*, comprovaram a eficácia destes, em teste *in vitro*, casa de vegetação e a campo.

Tabela 5– Crescimento micelial (mm) de cinco gêneros fúngicos em meio batata-dextrose-ágar (BDA) acrescido de $1\mu\text{L mL}^{-1}$ de óleo essencial de *Nectandra grandiflora* (OE1), *N. megapotamica* (OE2), *Piper gaudichaudianum* (OE3), etanol (CN) e fungicida comercial Propiconazole (CP).

Espécie fúngica	Tratamentos				
	CN	OE 1	OE 2	OE 3	CP
<i>Fusarium equiseti</i>	87,67 ±1,97aA	41,05±3,85aC	61,14±4,11aB	11,36±0,54bD	0±0aE
<i>Fusarium oxysporum</i>	72,23±3,49bA	30,74±0,90bC	49,50±1,82bB	20,47±0,86aD	0±0aE
<i>Cladosporium subuliforme</i>	48,22±0,20aA	28,01±0,85aB	30,19±0,29aB	8,26±0,82aC	0±0aD
<i>Cladosporium pseudocladosporioides</i>	45,11±1,62aA	21,98±0,73bB	28,12±1,61aB	6,92±0,12aC	0±0aD
<i>Pestalotiopsis cocculi</i>	84,00±51,11aA	14,92±0,74aC	52,06±3,95aB	0± 0 aD	0±0aD
<i>Pestalotiopsis clavispora</i>	71,18±3,66bA	13,96±0,84aC	29,29±3,29bB	0± 0 aD	0±0aD
<i>Lasiodiplodia subglobosa</i>	90± 0 A	22,49± 2,30C	37,86 ±1,89B	11,73± 0,82D	0±0E
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	89,34±1,06A	41,04± 2,36C	63,38±3,63B	24,07± 1,22D	0±0E

*Linhas: letras maiúsculas, comparação do efeito de diferentes óleos essenciais sobre a mesma espécie fúngica. Colunas: letras minúsculas, comparação entre diferentes espécies do mesmo gênero. ** Os dados são expressos como média ± DP (Desvio Padrão). Letras iguais não se diferenciam significativamente pelo teste de Scott-knott ($P < 0,05$).

O crescimento micelial de *Cladosporium* spp. é mais lento, não havendo diferença entre as espécies, como pode ser observado no controle negativo. Os óleos essenciais se diferenciaram estatisticamente do controle negativo, reduzindo assim o crescimento micelial de *C. pseudocladosporioides* e *C. subuliforme*, no entanto, o óleo essencial de *Nectandra grandiflora* (OE1) e *N. megapotamica* (OE2) não apresentaram diferença, permitindo um crescimento micelial intermediário. Já o óleo essencial de *Piper gaudichaudianum* (OE3) reduziu drasticamente o crescimento micelial de ambas as espécies de *Cladosporium*. Resultados semelhantes, foram encontrados com outras espécies do gênero *Piper* por Navickiene et al. (2006), com o óleo essencial de plantas de *P. aduncum* e *P. tuberculatum* sobre os fungos *Cladosporium cladosporioides* e *C. sphaerospermum*, respectivamente, na concentração de $10\ \mu\text{g.mL}^{-1}$, que foi capaz de impedir completamente o crescimento dos patógenos. Dados estes que evidenciam o potencial do óleo essencial de *P. gaudichaudianum* que ao ser avaliado em uma concentração 10 vezes menor, conseguiu reduzir cerca de 80% do crescimento micelial dos fungos do gênero *Cladosporium*.

Houve diferença significativa para o crescimento micelial entre as espécies de *Pestalotiopsis* no controle negativo, das quais *P. cocculi* apresentou um crescimento final maior, o que é observado também para o tratamento com OE2, nos demais tratamentos não houve diferenças entre as espécies. Os óleos essenciais de *N. grandiflora* e *N. megapotamica* diferiram do controle negativo e positivo, reduzindo o crescimento micelial dos patógenos. O tratamento com óleo essencial de *P. gaudichaudianum* não se diferenciou do controle positivo

(CP), impedindo completamente o crescimento micelial dos fungos do gênero *Pestalotiopsis* (0 mm).

A atividade antifúngica dos óleos essenciais foi semelhante para *Colletotrichum gloeosporioides* e *Lasiodiplodia subglobosa*, visto que houve diferença estatística no crescimento dos patógenos em todos os tratamentos (Tabela 5). Assim como para as demais espécies fúngicas, o tratamento com o OE3 resultou nos menores valores de crescimento micelial, seguido do OE1 e do OE2 que apresentou o crescimento mais próximo do controle negativo. PINEDA et al. (2012) ao avaliarem os OEs de *Piper auritum* e *P. holtonii* no controle *in vitro* de *C. gloeosporioides* e *Lasiodiplodia theobromae*, observaram que ambas as espécies do gênero *Piper* reduziram significativamente o crescimento micelial dos patógenos. No entanto, o OE de *P. holtonii* apresentou uma maior atividade antifúngica, sendo capaz de inibir 100% do crescimento fúngico de *B. theobromae*, o qual se mostrou mais propenso à ação de ambos os OEs, quando comparado com *C. gloeosporioides*. Essa maior sensibilidade à atividade dos OEs também foi observada para o fungo *L. subglobosa* no presente estudo.

Desse modo, quando os fungos são submetidos ao contato com os diferentes óleos, tanto o crescimento micelial (Tabela 5) como a taxa de crescimento micelial (Tabela 6) que são variáveis relacionadas, apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. Os maiores valores de taxa de crescimento micelial diária foram obtidos no controle negativo, reduzindo de forma gradual quando o crescimento fúngico se deu em presença do óleo de *N. megapotamica*, *N. grandiflora* e *P. gaudichaudianum* que apresentou as menores taxas de crescimento, inclusive a taxa zero para os fungos do gênero *Pestalotiopsis*, que não diferiu do controle positivo.

Tabela 6– Taxa de crescimento micelial diária (mm.dia¹) de cinco gêneros fúngicos em meio batata-dextrose-ágar (BDA) acrescido de 1µL mL⁻¹ óleo essencial de *Nectandra grandiflora* (OE1), *N. megapotamica* (OE2), *Piper gaudichaudianum* (OE3), etanol (CN) e fungicida comercial Propiconazole (CP).

Espécie fúngica	Tratamentos				
	CN	OE 1	OE 2	OE 3	CP
<i>Fusarium equiseti</i>	14,61±0,85aA	6,89±0,91aC	10,79±0,85aB	1,90±1,42bD	0± 0aE
<i>Fusarium oxysporum</i>	10,32±0,53bA	4,58±1,68bC	7,18±0,86bB	2,81±0,44aD	0±0aE
<i>Cladosporium subuliforme</i>	4,17±0,02aA	2,24±0,49aB	2,35±0,13aB	0,58±0,51aC	0±0aD
<i>Cladosporium pseudocladosporioides</i>	3,01±0,12bA	1,46±0,56bC	2,03±0,06bB	0,50±0aD	0±0aD
<i>Pestalotiopsis cocculi</i>	12,01±0,54aA	2,13±3,00aC	7,44±1,53aB	0± 0aD	0±0aD
<i>Pestalotiopsis clavispora</i>	10,31±0,31bA	1,99±2,10aC	4,87±0,31bB	0± 0aD	0 ±0aD
<i>Lasiodiplodia subglobosa</i>	22,50±0 A	3,46±5,84 B	5,71±0,62 B	1,47±1,92C	0± 0D
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	12,77± 0,26 A	6,06 ±0,20 C	8,68± 0,64 B	3,46 ± 0,75D	0± 0 E

*Linhas: letras maiúsculas, comparação do efeito de diferentes óleos essenciais sobre a mesma espécie fúngica. Colunas: letras minúsculas, comparação entre diferentes espécies do mesmo gênero. ** Os dados são expressos como média ± DP (Desvio Padrão). Letras iguais não se diferenciam significativamente pelo teste de Scott-knott (P <0,05).

Quando se trata do controle de patógenos, o micélio possui um papel importante na redução da infecção, pois é responsável pela assimilação de nutrientes, fixação e crescimento da espécie, além de desempenhar a função de conservar, reproduzir e disseminar o fungo (YAN et al., 2014). Em relação à inibição do crescimento micelial, os óleos essenciais foram capazes de inibir de 30 a 100% o crescimento micelial dos fungos. Os tratamentos com óleo essencial se diferenciaram estatisticamente do controle negativo e do controle positivo (CP), exceto o OE de *Piper gaudichaudianum* frente aos fungos do gênero *Pestalotiopsis* e *Lasiodiplodia*, que não diferiram estatisticamente do CP.

P. gaudichaudianum apresentou uma inibição satisfatória frente às diferentes espécies fúngicas, uma vez que as percentagens de inibição foram de 70% para *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gloeosporioides*, 80% para *Cladosporium* spp. e *F. equiseti*. Além disso, o crescimento micelial das espécies de *Pestalotiopsis* foi completamente inibido e, para o gênero *Lasiodiplodia*, a percentagem de inibição foi de 90%. Com isso, pode-se inferir que o óleo essencial de *P. gaudichaudianum*, possui uma maior atividade antifúngica frente aos fungos avaliados, propiciando as maiores taxas de inibição do crescimento micelial.

Esse maior espectro de ação antifúngica, pode ser explicado pela presença do dilapiol como componente majoritário do OE de *Piper gaudichaudianum*, o dilapiol pertence a classe dos fenilpropanoides e sua fórmula química é C₁₂H₁₄O₄ (BELZILE et al., 2000). Essa molécula química também é encontrada como componente principal do OE de *P. aduncum* L (35-90%), espécie endêmica no norte do Brasil (SILVA; BASTOS, 2007). O dilapiol extraído de *Piper*

holtonii, foi avaliado quanto a sua capacidade de controlar o fungo *C. acutatum*, e os resultados o evidenciaram como um potencial agente de controle fúngico (VIZCAÍNO-PÁEZ et al., 2016).

O OE de *P. aduncum* com alto teor de dilapiol (86,9%) demonstrou possuir atividade fungicida sobre o patógeno *Crinipellis pernicioso*, além de ser capaz de causar 100% de mortalidade em *Anopheles marajoara* e *Aedes aegypti*, tanto na fase de larva como de mosquito, comprovando assim, sua ação larvicida e inseticida (ALMEIDA et al., 2009). Dados encontrados na literatura com OEs de outras espécies do gênero *Piper* corroboram para os resultados de atividade antifúngica descritos no presente trabalho (PINEDA et al., 2012; SOIDROU et al., 2013). Além disso, a eficácia dos OEs no controle de fungos filamentosos, se deve a origem lipofílica e aeróbia da membrana, o que permite que o OE seja facilmente absorvido e distribuído (INOUYE, 2003).

Para o óleo essencial de *Nectandra grandiflora* (OE1) o comportamento dos gêneros fúngicos foi semelhante ao apresentado com o OE3, porém as percentagens de inibição alcançadas foram menores, variando de 44,2% em *Cladosporium pseudocladosporioides* à 82,9% em *Pestalotiopsis cocculi*, seguido por *Lasiodiplodia subglobosa* (74,5%), *Fusarium equiseti* (56,7%) e *Colletotrichum gloeosporioides* (49,3%). Na literatura não foram encontrados relatos sobre a capacidade inibitória do OE de *N. grandiflora* sobre os fungos fitopatogênicos em estudo. No entanto, recentemente Silva et al. (2018) relataram o potencial inibitório de extratos oriundos de folhas de *N. grandiflora* sobre o crescimento de *Aspergillus niger*, atingindo 98% de inibição ao utilizar a concentração final de 100 mg/mL.

Entretanto, no presente estudo a concentração do óleo de *Nectandra grandiflora* avaliada não foi suficiente para inibir completamente o crescimento micelial, apesar de ter demonstrado uma atividade promissora no controle dos patógenos. Desta forma, se torna necessário que concentrações maiores sejam estudadas, uma vez que, Bianchini, (2017) ao avaliar o efeito do OE de *N. grandiflora* no crescimento micelial de *Trametes versicolor* (L.: Fr) Pilát obteve 100% de inibição com a concentração de 2,0 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de OE. Utilizando o OE da mesma espécie, Silva et al. (2016) avaliaram diferentes concentrações contra fungos de podridão marrom e alcançaram uma inibição de 95% do crescimento micelial com a concentração de 5,0 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de OE.

As percentagens de inibição apresentadas pelo óleo essencial de *Nectandra megapotamica* foram as menores dentre os três OEs avaliados, para todos os gêneros fúngicos. No entanto, a maior inibição foi sobre o fungo *Lasiodiplodia subglobosa* (55,9%), que mostrou maior sensibilidade a ação dos óleos essenciais, resultando em valores de inibição satisfatórios com todos os OEs. Estes dados corroboram com os valores de inibição (58%) obtidos com a

aplicação de OE de *N. megapotamica* no controle do crescimento micelial de *P. sanguineous* a $1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ (BIANCHINI, 2015). Na sequência, as inibições em ordem decrescente foram para os fungos dos gêneros *Cladosporium*, *Pestalotiopsis*, *Fusarium* e por último os menores valores de inibição para o gênero *Colletotrichum*.

A menor atividade antifúngica expressa pelo OE de *N. megapotamica*, deve-se ao fato deste óleo ser composto majoritariamente por hidrocarbonetos, sendo relatado que a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais é desencadeada por compostos fenólicos, sendo desenvolvida em maiores proporções por aldeídos, seguido das cetonas, álcoois, éteres e em menores proporções por hidrocarbonetos (KALEMBA; KUNICKA, 2003).

O fungo *Fusarium equiseti* apresentou menores valores de esporulação (Tabela 8), diferindo estatisticamente da esporulação de *F. oxysporum* em todos os tratamentos. Para *F.oxysporum* o OE3 apresentou uma redução de 70% na esporulação quando comparado com o CN ($10,7 \times 10^6$ esporos/ml). Já para *F. equiseti* a redução da esporulação foi de 90%. O OE1 reduziu cerca de 60% a esporulação, seguido do OE2 (50%), o qual apresentou os menores valores de inibição, contudo foi capaz de reduzir a esporulação de *F. oxysporum* e *F. equiseti*. Em trabalho realizado por Pereira et al. (2010), a produção de conídios de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* foi reduzida à medida que a concentração do óleo de nim (*Azadirachta indica*) foi aumentada, sendo os menores valores de esporulação atingidos nas maiores concentrações de OE. Assim, maiores concentrações dos óleos em estudo devem ser avaliadas, afim de inibir completamente a formação de conídios.

No controle negativo, as espécies do gênero *Cladosporium* se diferenciaram estatisticamente quanto à esporulação. Para tanto, *C. subuliforme* apresentou uma esporulação de $2,54 \times 10^6$ esporos/mL, enquanto a esporulação de *C. pseudocladosporioides* foi de $28,39 \times 10^6$ esporos/mL. Essa diferença na esporulação dos isolados utilizados nesse estudo é explicada pelo fato de que, apesar de ambos pertencerem ao complexo *Cladosporium cladosporioides*, que engloba diversas espécies semelhantes, existem características morfológicas específicas de cada espécie, como é o caso da esporulação (BENSCH et al., 2010). Contudo, ao aplicar os óleos essenciais essa diferença de esporulação entre as espécies não é verificada, ou seja, os OEs reduzem a esporulação, independentemente da espécie.

Tabela 7– Esporulação ($\times 10^6$ esporos/ml) de quatro gêneros fúngicos em meio batata-dextrose-ágar (BDA) acrescido de $1\mu\text{L mL}^{-1}$ de óleo essencial de *Nectandra grandiflora* (OE1), *N. megapotamica* (OE2), *Piper gaudichaudianum* (OE3), etanol (CN) e fungicida comercial Propiconazole (CP).

Espécie fúngica	Tratamentos				
	CN	OE 1	OE 2	OE 3	CP
<i>Fusarium equiseti</i>	6,59±0,52bA*	0,98±0,10bC	2,73±0,20bB	0,08±0,04bD	0±0aD
<i>Fusarium oxysporum</i>	10,7±0,54aA	4,15± 0,28aB	5,59±0,40aB	3,20±0,09aC	0±0aD
<i>Cladosporium subuliforme</i>	2,54±0,06bA	0,87±0,10aC	1,47±0,23aB	0±0aD	0±0aD
<i>Cladosporium pseudocladosporioides</i>	28,39±8,65aA	3,73± 0,15aB	5,76±0,07aB	1,58±0,44aC	0±0aD
<i>Pestalotiopsis cocculi</i>	3,88±0,36aA	0,38±0,01aC	1,56±0,09aB	0±0 aD	0±0aD
<i>Pestalotiopsis clavispora</i>	2,91±0,24bA	0,14±0,06bC	0,70±0,43bB	0±0 aD	0±0aD
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	9,38±0,27 A	0,59± 0,14C	4,93±0,15B	0,22±0,09D	0 ±0D

*Linhas: letras maiúsculas, comparação do efeito de diferentes óleos essenciais sobre a mesma espécie fúngica. Colunas: letras minúsculas, comparação entre diferentes espécies do mesmo gênero. ** Os dados são expressos como média \pm DP (Desvio Padrão). Letras iguais não se diferenciam significativamente pelo teste de Scott-knott ($P < 0,05$).

Todos os tratamentos foram capazes de reduzir a esporulação de *C. pseudocladosporioides*, porém não houve diferença estatística entre o OE1 e OE2. O OE3 proporcionou a inibição de cerca de 90% da esporulação de *C. pseudocladosporioides*, já para a espécie *C. subuliforme* o OE3 inibiu completamente a esporulação, impossibilitando a produção de esporos e não diferindo do controle positivo (CP). Porém, foi observada a formação de clamidósporos (Figura 4), que são estruturas de resistência desenvolvidas frente à condição adversa que o patógeno encontrou na presença do OE3. Essas estruturas são formadas por uma célula única com citoplasma condensado, o qual resulta do acúmulo de reservas nutritivas, sua origem se dá nas hifas, e casualmente pode se formar através dos conídios (MICHEREFF et al., 2005). A formação de clamidósporos permite que o patógeno permaneça viável por longos períodos, sendo que as germinações dessas estruturas ocorrem ao encontrar hospedeiro e condições que propiciam o seu desenvolvimento (AGRIOS, 2005). Os demais OEs reduziram a esporulação diferindo do CN e do CP, sendo a menor esporulação observada ao utilizar o OE1.

Figura 4— Clamidósporos desenvolvidos pelo patógeno *Cladosporium subuliforme* na presença do óleo essencial de *Piper gaudichaudianum*.



Fonte: a autora.

Pestalotiopsis cocculi e *P. clavispora* apresentaram diferença significativa, tanto no CN como para os tratamentos com óleo essencial das espécies de *Nectandra*, sendo que a esporulação de *P. clavispora* foi mais sensível, apresentando os menores valores de esporulação em todos os tratamentos. O OE3 inibiu completamente o crescimento micelial de ambas as espécies, não se diferenciando do CP e impedindo a formação de esporos, já o OE2 não se diferenciou do CN para a espécie *P. cocculi* e o OE1 apresentou os menores valores de esporulação para ambas as espécies.

A esporulação de *Colletotrichum gloeosporioides* apresentou um comportamento parecido com o de *F. equiseti*, pois no tratamento com apenas Etanol (CN) teve uma esporulação de $9,38 \times 10^6$ esporos/ml, diferindo dos demais tratamentos, sendo que o OE3 apresentou o menor valor de esporulação e não diferiu do tratamento com fungicida químico (CP), seguido pelo óleo de *N. grandiflora* (OE1) que reduziu significativamente a esporulação e o OE2 que apresentou a menor redução no valor da esporulação. O gênero *Lasiodiplodia* não esporulou nas condições em que o experimento foi realizado.

A interferência dos OEs na produção de esporos pode ser considerada um mecanismo de ação para impedir o desenvolvimento do fungo, uma vez que a redução da esporulação foi proporcional a inibição do crescimento micelial. Além disso, o OE de *P. gaudichaudianum* impediu o crescimento fúngico e a formação de esporos nos gêneros *Pestalotiopsis* spp e *Cladosporium* spp.

O modo de ação dos óleos essenciais refere-se à capacidade que apresentam de inibir ou interferir no desenvolvimento dos patógenos. *Piper gaudichaudianum* apresentou modo de ação fungicida (Tabela 8) sobre *Pestalotiopsis* spp., ou seja, o fungo foi impedido de crescer quando em contato com o óleo, sendo incapaz de retomar o crescimento. No entanto, a ação do *Piper gaudichaudianum* ocorre de forma específica em cada espécie fúngica, sendo que para os demais fungos o modo de ação foi fungistático. O óleo inibiu o crescimento, chegando a valores de crescimento final baixíssimos, entretanto, em condições ideais os patógenos conseguem retomar o crescimento. Em trabalho realizado por Kedia et al. (2014) ao avaliarem a concentração de 1 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de óleo essencial de *Menta sphata* sobre *Fusarium oxysporum* e *Cladosporium cladosporioides*, foram observados modo de ação fungistático e fungicida, respectivamente, corroborando com o resultado que os óleos atuam de forma distinta para cada gênero fúngico.

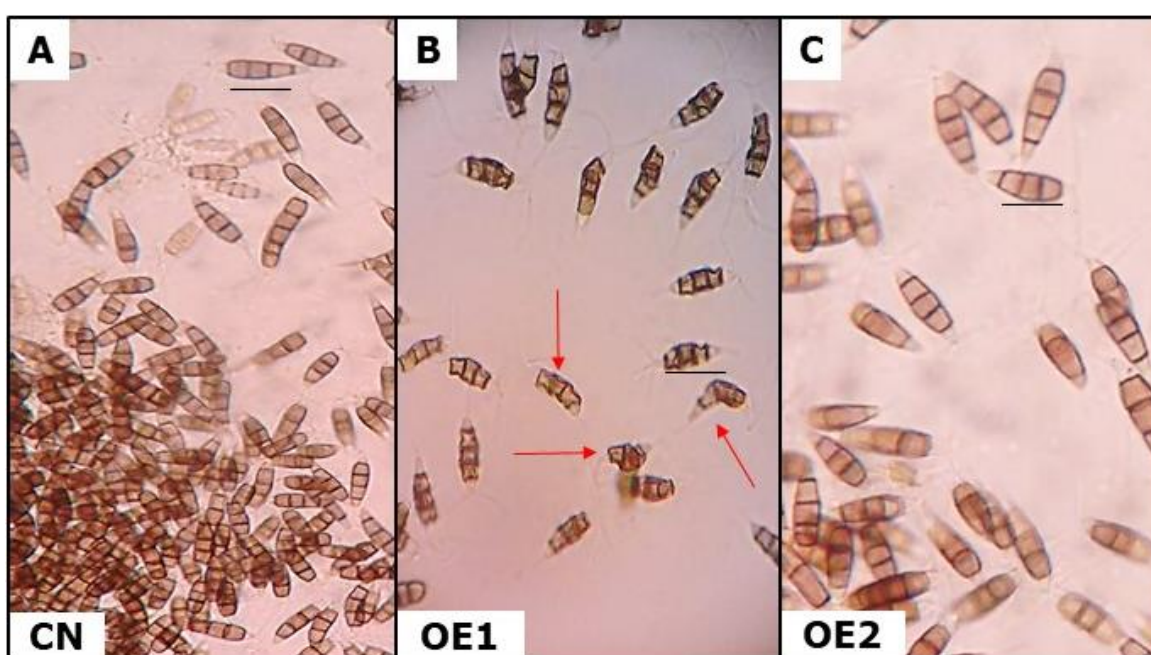
Tabela 8– Modo de ação dos óleos essenciais de *Nectandra grandiflora* (OE1), *N. megapotamica* (OE2) e *Piper gaudichaudianum* (OE3), sobre oito espécies fúngicas.

Espécies fúngicas	Tratamentos		
	OE 1	OE2	OE 3
<i>Fusarium oxysporum</i>	Fungistática	Fungistática	Fungistática
<i>Fusarium equiseti</i>	Fungistática	Fungistática	Fungistática
<i>Cladosporium pseudocladosporioides</i>	Fungistática	Fungistática	Fungistática
<i>Cladosporium subuliforme</i>	Fungistática	Fungistática	Fungistática
<i>Pestalotiopsis clavispora</i>	Fungitóxica	Fungistática	Fungicida
<i>Pestalotiopsis cocculi</i>	Fungitóxica	Fungistática	Fungicida
<i>Lasiodiplodia subglobosa</i>	Fungistática	Fungistática	Fungistática
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Fungistática	Fungistática	Fungistática

O OE de *Nectandra grandiflora* ao ser aplicado sobre os fungos do gênero *Pestalotiopsis* ocasionou deformação e mudanças na forma de esporo, o que sugere um efeito fungitóxico, ou seja, o patógeno teve a forma modificada pela ação do OE, mas o mesmo não foi capaz de provocar a morte das estruturas reprodutivas. Os esporos apresentaram superfícies enrugadas, rompidas e com aspecto de ressecamento do conteúdo celular (Figura 2-B). O

mesmo foi observado para *Fusarium graminearum*, quando exposto a ação do OE de *Curcuma longa* L. (KUMAR et al., 2016). Para os demais gêneros fúngicos o OE1 apresentou ação fungistática, o que evidencia que *Pestalotiopsis* spp apresenta maior sensibilidade a ação dos óleos de *N. grandiflora* e *P. gaudichaudianum*. A ação fungistática também foi observada ao utilizar o OE de *Nectandra megapotamica* em todas as espécies fúngicas.

Figura 5– Ação do óleo essencial de *Nectandra grandiflora* (OE1) e *Nectandra megapotamica* (OE2) sobre os conídios de *Pestalotiopsis* spp.



Fonte: a autora.

Os resultados de comprimento de esporos são apresentados na Tabela 9, onde pode-se observar que não houve diferença significativa entre as espécies de *Fusarium* no controle negativo, porém, nos demais tratamentos, as espécies se diferenciaram, sendo que os menores valores de comprimento são encontrados para *F. oxysporum*. Não houve diferença entre os óleos essenciais no comprimento e largura (Tabelas 9 e 10) de esporos de *F. oxysporum*, entretanto, os três óleos foram capazes de impedir a formação de macroconídios e consequentemente apresentar menores valores de comprimento e largura, quando comparados com o CN. A espécie *F. equiseti* apresentou um comportamento semelhante, sendo que os menores valores de largura e comprimento de esporos foram encontrados no OE3, que não diferiu do OE1. Já o OE2 apresentou um valor intermediário, o que comprova que todos os OEs

foram capazes de reduzir o comprimento de esporo. O mesmo é observado para a largura, porém não há diferença entre a redução da dimensão de esporo ocasionada pelos OEs.

Tabela 9– Comprimento (μm) de esporos de quatro gêneros fúngicos sobre ação de $1\mu\text{L mL}^{-1}$ de óleo essencial de *Nectandra grandiflora* (OE1), *N. megapotamica* (OE2), *Piper gaudichaudianum* (OE3), etanol (CN) e fungicida comercial Propiconazole (CP).

Espécies fúngicas	Tratamentos				
	CN	OE 1	OE 2	OE 3	CP
<i>Fusarium equiseti</i>	27,82 \pm 2,84aA	10,96 \pm 0,67aC	14,67 \pm 0,84aB	11,03 \pm 0,77aC	0 \pm 0aD
<i>Fusarium oxysporum</i>	26,11 \pm 1,42aA	5,01 \pm 0,11bB	5,18 \pm 0,74bB	4,40 \pm 0,25bB	0 \pm 0aC
<i>Cladosporium subuliforme</i>	15,35 \pm 1,16aA	11,45 \pm 0,36aC	15,10 \pm 0,30aB	0 \pm 0bD	0 \pm 0aD
<i>Cladosporium pseudocladosporioides</i>	17,13 \pm 0,53aA	7,59 \pm 0,08bB	7,79 \pm 0,14bB	4,94 \pm 1,1aC	0 \pm 0aD
<i>Pestalotiopsis clavispora</i>	33,91 \pm 0,81aA	20,16 \pm 0,63aC	31,95 \pm 1,04aB	0 \pm 0aD	0 \pm 0aD
<i>Pestalotiopsis cocculi</i>	26,71 \pm 0,72bA	16,12 \pm 0,29bC	23,26 \pm 0,04bB	0 \pm 0aD	0 \pm 0aD
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	24,30 \pm 0,85A	19,51 \pm 0,91B	20,73 \pm 0,98B	17,46 \pm 0,77C	0 \pm 0 D

*Linhas: letras maiúsculas, comparação do efeito de diferentes óleos essenciais sobre a mesma espécie fúngica. Colunas: letras minúsculas, comparação entre diferentes espécies do mesmo gênero. ** Os dados são expressos como média \pm DP (Desvio Padrão). Letras iguais não se diferenciam significativamente pelo teste de Scott-knott ($P < 0,05$).

O gênero *Cladosporium* não apresentou diferença entre as espécies no CN, porém nos demais tratamentos houve diferença significativa, sendo o comprimento e a largura dos esporos de *C. subuliforme* menor do que os de *C. pseudocladosporioides*, mostrando assim maior sensibilidade a ação dos OEs. A redução no tamanho de esporos proporcionada pelo uso do OE1 e OE2 não apresentou diferença, diferindo apenas do OE3 que teve um comprimento médio de 4,94 μm . Para a largura, o OE2 não diferiu do CN, ou seja, o óleo de *N. megapotamica* não interfere na largura de esporo de *C. pseudocladosporioides*. A espécie *C. subuliforme* teve o comprimento e a largura reduzida ao utilizar o OE1 (11,45/ 3,46 μm) e OE2 (15,10/4,66 μm), quando comparado com o CN (15,35/5,27 μm) e como já mencionado anteriormente, o OE3 impediu a formação de esporos.

As espécies do gênero *Pestalotiopsis* se diferenciaram estatisticamente no CN, sendo que *P. cocculi* apresentou os menores valores de comprimento e largura de esporo, essa diferença também ocorreu nos demais tratamentos. Os óleos essenciais apresentaram um comportamento semelhante ao observado na esporulação, uma vez que o OE3 impediu o desenvolvimento de esporos de ambas as espécies de *Pestalotiopsis*, seguido do OE1 que reduziu o comprimento e largura de esporo. Além disso, o OE1 foi capaz de ocasionar deformações na parede do esporo, ruptura e ressecamento da estrutura reprodutiva (Figura 2), o que sugere que este óleo apresenta uma ação fungitóxica sobre os patógenos do gênero

Pestalotiopsis. Um dos fatores que pode explicar o efeito observado é a hidrofobicidade dos óleos essenciais, característica que o possibilita interagir com os lipídios da parede, membrana celular e da mitocôndria, acarretando modificações na permeabilidade e extravasamento do conteúdo celular (COSTA et al., 2011).

No entanto, apesar de ambos os OEs apresentarem características hidrofóbicas, cada OE atua de forma distinta sobre a parede celular fúngica. Uma das hipóteses para a ação fungitóxica do OE1 é a sua capacidade de interagir com os esteróis da membrana fúngica, impedindo a biossíntese do ergosterol e provocando conseqüentemente, a desintegração da membrana celular. O que não acontece ao utilizar o OE2, o qual apresentou uma pequena redução nos valores de comprimento, já para a variável largura não se diferenciou do CN.

Os óleos essenciais agiram de forma significativa no comprimento (Tabela 9) e na largura (Tabela 10) de esporos do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, para tanto todos os tratamentos se diferenciaram do CN, no entanto, não ocorreu diferença de ação entre OE1 e OE2, já o OE3 foi capaz de acarretar a maior redução tanto na largura como no comprimento. De forma geral, o óleo essencial de *Piper gaudichaudianum* foi o que teve maior influência no comprimento e largura de esporos dos fungos estudados, assim como no crescimento final, taxa de inibição e esporulação.

Tabela 10– Largura (μm) de esporos de quatro gêneros fúngicos sobre ação de $1\mu\text{L mL}^{-1}$ de óleo essencial de *Nectandra grandiflora* (OE1), *N. megapotamica* (OE2), *Piper gaudichaudianum* (OE3), etanol (CN) e fungicida comercial Propiconazole (CP).

Espécies fúngicas	Tratamentos				
	CN	OE 1	OE 2	OE 3	CP
<i>Fusarium equiseti</i>	5,76 \pm 0,38aA	3,85 \pm 0,11aB	4,10 \pm 0,09aB	3,52 \pm 0,18aB	0 \pm 0aC
<i>Fusarium oxysporum</i>	3,02 \pm 0,08bA	1,92 \pm 0,12bB	1,99 \pm 0,06bB	1,84 \pm 0,06bB	0 \pm 0aC
<i>Cladosporium subuliforme</i>	5,27 \pm 1,26aA	3,46 \pm 0,15aC	4,66 \pm 0,28aB	0 \pm 0bD	0 \pm 0aD
<i>Cladosporium pseudocladosporioides</i>	2,26 \pm 0,09bA	1,47 \pm 0,09bB	2,03 \pm 0,02bA	0,98 \pm 0aC	0 \pm 0aD
<i>Pestalotiopsis cocculi</i>	6,31 \pm 0,17aA	2,35 \pm 0,12bB	3,25 \pm 0,03bB	0 \pm 0aC	0 \pm 0aC
<i>Pestalotiopsis clavispora</i>	6,81 \pm 0,52aA	3,76 \pm 0,11aB	4,87 \pm 0,27aA	0 \pm 0aC	0 \pm 0aC
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	6,14 \pm 0,13A	3,88 \pm 0,20B	4,11 \pm 0,02B	3,46 \pm 0,18C	0 \pm 0D

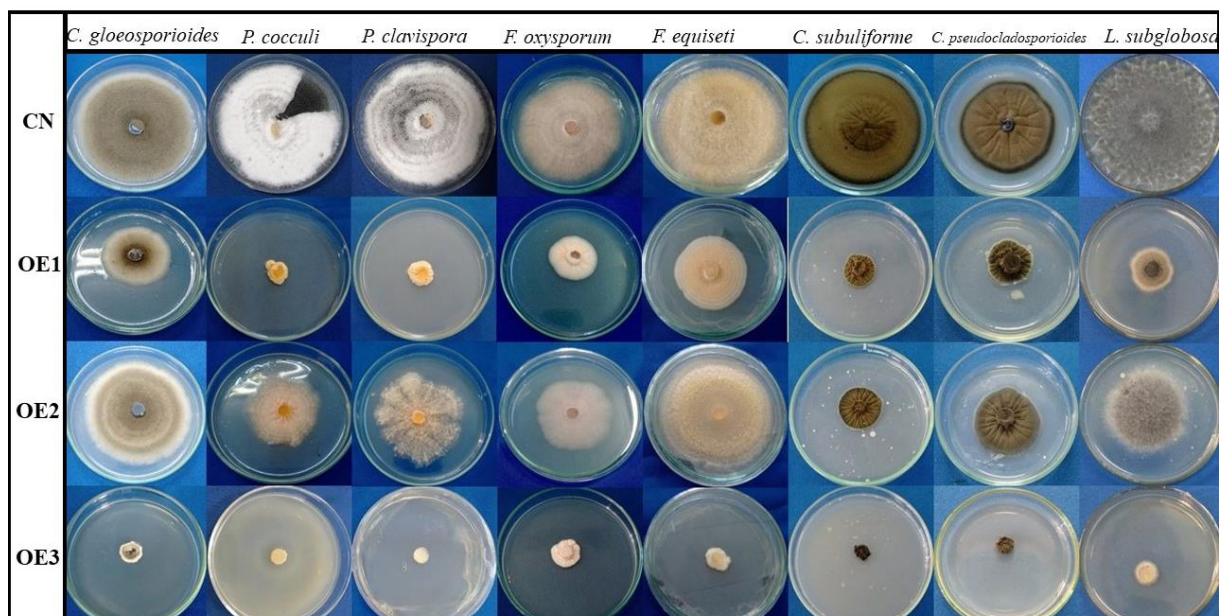
*Linhas: letras maiúsculas, comparação do efeito de diferentes óleos essenciais sobre a mesma espécie fúngica. Colunas: letras minúsculas, comparação entre diferentes espécies do mesmo gênero. ** Os dados são expressos como média \pm DP (Desvio Padrão). Letras iguais não se diferenciam significativamente pelo teste de Scott-knott ($P < 0,05$).

A coloração do micélio aéreo dos isolados fúngicos de acordo com a carta de cores de Munsell, pode ser observada na Figura 6. Em relação ao gênero *Fusarium*, ambas as espécies apresentaram coloração Rosa claro em todos os tratamentos, exceto quando utilizou-se o óleo essencial de *P. gaudichaudianum*. A presença do OE3 alterou a coloração do micélio aéreo

produzido, que passou a ser Branco. Já para as espécies de *Cladosporium*, a presença do OE3 impediu o crescimento micelial sobre o meio de cultura contido na placa, porém o patógeno foi capaz de explorar o disco de BDA utilizado para repicar os propágulos fúngicos. A coloração variou de Cinza escuro a Preto na presença dos OEs, já no controle negativo a coloração foi Cinza-esverdeado.

O gênero *Pestalotiopsis* possui micélio aéreo Branco com pontuações negras no centro, devido a intensa esporulação como pode ser observado no controle negativo, porém ao utilizar o OE1 e OE2 a coloração do micélio foi Branco rosado e sem a presença das pontuações escuras. Para os gêneros *Colletotrichum* e *Lasiodiplodia* todos os OEs ocasionaram a produção de micélio com coloração mais clara que o produzido pelo controle negativo, variando de Cinza esverdeado escuro a Cinza claro, e de Cinza escuro a Branco, respectivamente.

Figura 6– Coloração do micélio aéreo de 5 gêneros fúngicos obre ação de 1 μ L mL⁻¹ de óleo essencial de *Nectandra grandiflora* (OE1), *N. megapotamica* (OE2), *Piper gaudichaudianum* (OE3), etanol (CN).



Fonte: A autora.

A inibição do crescimento micelial, mudança na coloração e as alterações provocadas nos esporos, podem ocorrer dada a capacidade que os OEs possuem de penetrar e romper a parede celular fúngica, assim como as membranas citoplasmáticas, além de aumentar a permeabilidade e provocar a desintegração das membranas mitocondriais. Isso ocorre, devido

a despolarização das membranas mitocondriais ocasionada pelos óleos essenciais, que interferem nos canais de íons, especialmente íons de Ca^{2+} , pools de ATP e bombas de prótons, além de alterarem o fluxo de elétrons dentro da via do sistema de transporte de elétrons (ETS). Esse aumento na permeabilidade das membranas pode resultar na apoptose celular ou necrose, acarretando a morte da célula fúngica (ARNAL-SCHNEBELEN et al., 2004; SWAMY et al., 2016). Outra forma de ação dos OEs para inibir o crescimento fúngico é através da inibição da biossíntese do ergosterol, que provoca modificações na membrana citoplasmática (CHAVAN; TUPE, 2014). Recomenda-se que estudos posteriores sejam realizados para avaliar a interferência do óleo essencial de *P. gaudichaudinaum* e de *N. grandiflora* na produção do ergosterol de *Pestalotiopsis* spp.

Porém, se tratando dos mecanismos de ação dos OEs sobre fungos fitopatogênicos, inúmeros são os fatores que podem influenciar, sendo que os diferentes índices quantitativos e qualitativos de seus componentes possuem influência direta (GULLO et al., 2016). Resultados semelhantes foram observados por Silva (2001), o qual explica que os diversos componentes presentes nos OEs podem atuar em harmonia sinérgica e assim apresentar inúmeras formas de ação fungicida ou fungistática. Neste trabalho, a ação fungicida foi observada apenas com o uso do OE de *P. gaudichaudianum* na concentração de $1 \mu\text{L mL}^{-1}$, para ambas as espécies de *Pestalotiopsis*. Para as demais espécies fúngicas, sugere-se que concentrações maiores sejam avaliadas afim de elucidar as informações a respeito do modo de ação e controle dos OEs, uma vez que a concentração utilizada é extremamente pequena quando comparada aos demais trabalhos encontrados na literatura.

Segundo Schindler (2015), *P. gaudichaudianum* é uma espécie que possui grande potencial para produção de OE, devido ao bom rendimento apresentando durante as coletas e à composição química promissora, que conta com grande quantidade de dilapiol. Já a obtenção do material vegetal a ser utilizado para a extração do OE, poderá ser adquirido de fontes extrativistas ou cultivada, pois se trata de uma espécie rústica indicada para projetos de restauração ambiental, que propicia cobertura arbustiva em solos pobres (GUIMARÃES; VALENTE, 2001). Além do mais, foi observado que *P. gaudichaudianum* possui boa capacidade de refolhação, levando cerca de dois ou três meses para formação de novas folhas, o que favorece a produção do óleo (SCHINDLER, 2015).

No entanto, dentre os problemas encontrados para a viabilização do uso dos óleos essenciais no controle de patógenos, destaca-se a sua volatilidade e a insolubilidade em água (BATISH et al., 2008). Entretanto, uma das formas utilizadas para amenizar estes problemas é o uso da nanotecnologia, que permite que o produto seja liberado lentamente, além de proteger

os componentes químicos dos OEs das condições adversas (SOUZA, 1999; BIANCHINI, 2017). Em estudo recente realizado por BENJEMAA et al. (2018), o óleo essencial de *Thymus capitatus* quando encapsulado em sistemas de liberação baseados em nanoemulsões, resultou no aumento das propriedades antibacterianas, evidenciando a eficiência do uso das nanotecnologias.

Com isso, sugere-se que futuramente seja avaliado o nanoencapsulamento e o preparo de nanoemulsões com os óleos essenciais em estudo, visando diminuir os impasses de aplicabilidade e aumentar o efeito inibidor. Além disso, é necessário que sejam realizados testes com as plantas *in vivo*, afim de controlar os fungos *Pestalotiopsis* spp. e *Lasiodiplodia* spp., já que estes apresentaram a maior susceptibilidade frente aos extrativos avaliados.

5 CONCLUSÕES

- Os óleos essenciais de *Nectandra grandiflora*, *Nectandra megapotamica* e *Piper gaudichaudianum* possuem atividade antifúngica frente aos fungos *Fusarium oxysporum*, *Fusarium equiseti*, *Cladosporium subuliforme*, *Cladosporium pseudocladosporioides*, *Pestalotiopsis clavispota*, *Pestalotiopsis cocculi*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Lasiodiplodia subglobosa*.
- Os óleos essenciais possuem potencial de inibição do crescimento micelial diferentes, e atuam de forma específica para cada espécie fúngica.
- O óleo essencial de *Nectandra grandiflora* na concentração de $1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ causa deformações nos conídios de *Pestalotiopsis* spp.
- O óleo essencial de folhas de *Piper gaudichaudianum* na concentração de $1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ inibe completamente o crescimento micelial dos fungos do gênero *Pestalotiopsis* spp.
- O componente majoritário do óleo essencial de *Piper gaudichaudianum* foi o Dilapiol (66,9%).

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. **Plant Pathology** 5. ed. Amsterdan: Elsevier, 2005. p. 922.
- AHMAD, A. et al. Fungicida lactivity of thymol and carvacrol by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity against *Candida*. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 30, p.41-50, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20835742>>. Acesso em 20 jul. 2018. DOI: 10.1007/s10096-010-1050-8.
- ALFENAS, A.C. et al. **Clonagem e doenças do eucalipto**. 2 ed. Viçosa: Ed. UFV, 2009. 509 p.
- ALMEIDA, R. R. P. et al. Chemical variation in *Piper aduncum* and biological properties of its dillapiole-rich essential oil. **Chemistry & Biodiversity**, v. 6, p. 1427-1434, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19774604>>. Acesso em: 8 out. 2018. DOI: 10.1002/cbdv.200800212.
- AMARAL, L. P. **Caracterização química e avaliação biológica do óleo essencial de *Nectandra megapotamica* (Spreng.) Mez.** 2014. 129 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2014.
- ARGUEDAS, M.; CHAVERRI, P.; VERJANS, J.M. Problemas fitosanitarios de la teca (*Tectona grandis* L.f.) en Costa Rica. **Recursos Naturales y Ambiente**, v. 41, p.131-136, 2004. Disponível em: <<http://bco.catie.ac.cr/portal-revistas/index.php/RRNA/article/view/365/516>>. Acesso em: 15 dez. 2018.
- ARNAL-SCHNEBELEN B, et al. Essential oils in infectious gynaecological disease: a statistical study of 658 cases. **International Journal of Aromatherapy**, v.14, n.4, 2004. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096245620400089X>>. Acesso em: 7 jan. 2019. DOI: doi.org/10.1016/j.ijat.2004.09.003.
- APEL, M. A. et al. Screening of the biological activity from essential oils of native species from Atlantica in forest (São Paulo – Brazil). **Pharmacology online**, v.3, p.376-383, 2006. Disponível em: <<https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2006/vol3/033.Apel.pdf>>. Acesso em: 24 jul. 2018.
- BADAWY, M. E. I.; ABDELGALEIL, S. A. M. Composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Egyptian plants against plant pathogenic bacteria and fungi. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 776-782, jan. 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669013006808>>. Acesso em: 15 nov. 2018. DOI: /doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.003.
- BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, Fev. 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691507004541>>. Acesso em: 5 mar. 2018. DOI: doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106.

BAILEY, A. J.; JEGER, J. M. *Colletotrichum*: biology, pathology and control .**Oxford: British Society for Plant Pathology**, p. 388, 1992.

BARDELLI, K.C. et al. O gênero *Piper* L. (Piperaceae) da Mata Atlântica da Microbacia do Sítio Cabuçu-Proguaru, Guarulhos, SP, Brasil. **Hoehnea**, v.35, p.553-561, 2008.

BARROSO, G. M. et al. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. 2. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, v.1, 2002.

BARNECHE, S. et al. Prospección química y microbiológica del bosque de galería del río Uruguay. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 6, p. 878-885, 2010.

BATISH, D. R. et al. *Eucalyptus* essential oil as a natural pesticide. **Forest Ecology and Management**. v. 256, n. 12, p. 2166-2174, dez., 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378112708006166>>. Acesso em: 25 jan. 2018. DOI: doi.org/10.1016/j.foreco.2008.08.008.

BELTRAME, J. M. et al. Estudo de obtenção de óleos essenciais e fatores de influência em sua composição. EXP – Ciência para o Desenvolvimento Sustentável. **Anais.. II ENDICT – Encontro de Divulgação Científica e Tecnológica**. Universidade Federal do Paraná UTFPR – Campus de Toledo. 2010.

BENJEMAAN et al. Nanoencapsulation of *Thymus capitatus* essential oil: Formulation process, physical stability characterization and antibacterial efficiency monitoring. **Industrial Crops and Products**, v. 113, mar. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669018300621>>. Acesso em: 18 dez.2018. DOI: doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.062.

BENTO, T. S. et al. Growth inhibition and antioxidative response of wood decay fungi exposed to plant extracts of *Casearia* species. **Letters in Applied Microbiology**, v. 58, n. 1, p. 79-86, 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378112708006166>>. Acesso em: 19 abr, 2018. DOI: 10.1111/lam.12159.

BENSCH, K. et al. Species and ecological diversity within the *Cladosporium cladosporioides* complex (*Davidiellaceae*, *Capnodiales*). **Studies in Mycology**, Netherlands, v. 67, p. 1-94, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2945380/>>. Acesso em: 27 nov. 2018. DOI: 10.3114/sim.2010.67.01.

BENSCH, K. et al. The genus *Cladosporium*. **Studies in Mycology**, v. 72, n. 1, p. 1-401, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22815589>>. Acesso em: 28 nov. 2018. DOI: 10.3114/sim0003.

BIANCHINI, N. H. **Óleos essenciais de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg e *Nectandra megapotamica* (Spreng.) Mez**. 2015. 51 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2015.

BIANCHINI, N. H. **Óleo essencial de *Nectandra grandiflora* Nees & Mart. ex Nees: efeito antifúngico e bioestimulante em cultivos *in vitro***. 2017. 98 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2017.

BOCK, C. H. et al. Severity of scab and its effects on fruit weight in mechanically hedge-pruned and topped pecan trees. **Plant Disease**, v.101, p. 785-793, 2017. Disponível em: <<https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PDIS-10-16-1473-RE>>. Acesso em: 09 jul. 2018. DOI: doi.org/10.1094/PDIS-10-16-1473-RE.

BORRERO, C., R. CASTAÑO, E M. AVILÉS. First report of *Pestalotiopsis clavispora* (*Neopestalotiopsis clavispora*) causing canker and twig dieback on blueberry bushes in Spain. **Plant Disease**, v. 102, n. 6, p. 1178, 2018. Disponível em: <<https://apsjournals.apsnet.org/doi/full/10.1094/PDIS-10-17-1529-PDN>>. Acesso em: 27 dez. 2018. DOI: doi.org/10.1094/PDIS-10-17-1529-PDN.

BORGES D. F. et al. Formulation of botanicals for the control of plant-pathogens: A review. **Crop Protection**, v. 110, p. 135-140, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261219418300942>>. Acesso em: 18 nov. 2018. DOI: doi.org/10.1016/j.cropro.2018.04.003.

BOTELHO, L.S.; MORAES, M.H.D.; MENTEN, J.O.M. Fungos associados às sementes de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia*) e ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa*): incidência, efeito na germinação e transmissão para as plântulas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, n. 4, p. 343-348, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-54052008000400008&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 15 ago. 2018. DOI: dx.doi.org/10.1590/S0100-54052008000400008.

BRENA, D.; LONGHI, S. J. Inventário florestal. In: ITAQUI, J. (Org.). Quarta Colônia: **Inventários técnicos**. Condesus Quarta Colônia: Santa Maria, 2002, 256 p.

BRITO, A. F. R. **Análise da variação sazonal e das atividades antifúngica e antimicrobiana em óleos essenciais de *Ocotea porosa* (Nees) Barroso e *Nectandra megapotamica* (Spreng.) Mez**. 2009. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica), Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

BRUM, R.B.C.S. **Efeito de óleos essenciais no controle de fungos fitopatogênicos**. 2012. 135p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2012.

BRUNETON, J. **Farmacognosia, fitoquímica, plantas medicinais**. Zaragoza: Acribia S. A., 2001.

BUENO, C. J.; AMBRÓSIO, M. M. Q.; SOUZA, N. L. Produção e avaliação da sobrevivência de estruturas de resistência de fungos fitopatogênicos habitantes do solo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.33, n.1, p.47-55, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-54052007000100007&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 21 ago. 2018. DOI: doi.org/10.1590/S0100-54052007000100007.

BURGESS, L.W. et al. Biodiversity and population studies on *Fusarium*. In: LOGRIECO, A.; SEIFERT, K.A.; LESLIE, J.F.A. et al. Biodiversity of toxigenic *Fusarium* species. *Sydowia*, Horn, v.30, p.1-11, 1997.

CACCIONI, D.R.L.; GUIZZARDI, M. Inhibition of germination and growth of fruit and vegetable postharvest pathogenic fungi by essential oil components. **Journal of Essential Oil Research**. Camberra. v.6, p.173-9, 1994. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10412905.1994.9698349>>. Acesso em: 16 jun. 2018. DOI: doi.org/10.1080/10412905.1994.9698349.

CHAVAN, P. S., & TUPE, S. G. Santosh G. Antifungal activity and mechanism of action of carvacrol and thymol against vineyard and wine spoilage yeasts. **Food Control**, SI, v. 46, p. 115-120, 2014. Disponível em: <http://ssu.ac.ir/cms/fileadmin/user_upload/Mtahghighat/tfood/asil-article/microb/Antifungal-activity-and-mechanism-of-action-of-carvacrol-and-thymol-against-vineyard-and-wine-spoilage-yeasts_2014_Food-Control.pdf>. Acesso em: 25 mar. 2017. DOI: dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.05.007.

CARDOSO, J.E. VIANA, F.M.P.; CYSNE, A.Q.; FARIAS, F.C.; SOUSA, R.N.M. Clone Embrapa 51: uma alternativa para resistência à resinose-do-cajueiro. Fortaleza: Embrapa-CNPAT, 2007.

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**. v.13, n.2, p. 240- 245, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722011000200018>. Acesso em: 05 abr. 2017. DOI: 10.1590/S1516-05722011000200018.

COTA, L.V. et al. Quantification of yield losses due to anthracnose stalk rot on corn in Brazilian conditions. **Journal of Phytopathology** v. 160, p. 680-684, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/jph.12008>>. Acesso em: 28 jan. 2018.

CORDEIRO, Z. J. M.; A. P. MATOS; H. KIMATI. Doenças da bananeira (*Musa* spp.). In: H. Kimati , L. Amorin, et al (Ed.). **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, p.99-117, 2005.

CUNICO, M. M. et al. Estudo preliminar antimicrobiano e fitoquímico do óleo essencial foliar da *Nectandra grandiflora* Nees (canela-amarela). In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON EDUCATION FOR SUSTAINABLE DEVELOPMENT, 2010, Curitiba. **Anais...** Curitiba, Brasil: UFPR, 2010.

DEAN, R. et al. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**. p. 414-430, 2012.

DWEBA, C. C. et al. Fusarium head blight of wheat: pathogenesis and control strategies. **Crop Protection**. 91,114–122, 2017. DOI: doi:10.1016/j.cropro.2016.10.002.

DI STASI, L. C., HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. Ed. 2. São Paulo SP. Ed. UNESP. 2002. 604p.

DOS SANTOS, G.R. et al. Efeito de óleos essenciais de plantas medicinais sobre a helmintosporiose do capim Tanzânia. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza v.44, n.3, p.587-593, jul-set., 2013. Disponível em: <<http://ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/2310>>. Acesso em: 25 mai.2018.

FARR, D. F.; ROSSMAN, A. Y. 2012. Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. Disponível em <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>.html. Acesso em 17 de Maio de 2018.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 5ª ed. São Paulo: Atheneu, 2010.

FAZOLIN, M. et al. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 113-120, 2007.

FISCHER, I. H. et al. Elaboração e validação de escala diagramática para quantificação da severidade da antracnose em frutos de maracujá amarelo. **Summa Phytopathologica**. 35:226-228, 2009.

FIGUEIREDO, A. C. et al. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**. n. 23, p. 213-226, mai., 2008. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ffj.1875>>. Acesso em: 18 jun. 2018. DOI: doi.org/10.1002/ffj.1875.

FRAGOSO, D.B., et al. Insecticide use and organophosphate resistance in the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 92, n.3, p. 203-212, jun., 2002. Disponível em: <<https://www.cambridge.org/core/journals/bulletin-of-entomological-research/article/insecticide-use-and-organophosphate-resistance-in-the-coffee-leaf-miner-leucoptera-coffeella-lepidopteralyonetiidae/A094F782C53557AB170BC7C6A8A9C4DD>>. Acesso em:15 mar. 2018. DOI: doi.org/10.1079/BER2002156.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007. Disponível em: <http://quimicanova.s bq.org.br/imagebank/pdf/Vol30No2_374_25-RV05289.pdf>. Acesso em: 18 nov. 2018.

GUIMARÃES, E. F.; VALENTE, M. C. Piperáceas – Piper. **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí, Santa Catarina. 2001. 103p.

GUIMARÃES, E. F. et al. Piperaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: [<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB012738>]. Acesso em: 18 Abr. 2018.

GULLO, F. P. Essential oils and major compounds of *Hedychium coronarium* Koenig (Zingiberaceae) against pathogenic yeast of *Candida* and *Cryptococcus* genus. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada**, v. 37, n.1, p. 2016. Disponível em: <<http://seer.fcfar.unesp.br/rcfba/index.php/rcfba/article/view/54/pdf54>>. Acesso em: 06 dez. 2018.

GRIGOLETTI JUNIOR, A.; SANTOS, A. F.; AUER, C. G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Floresta**, v. 30, n. 1-2, p. 155-165, 2000. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/floresta/article/view/2362>>. Acesso em: 12 set. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/ufpr.v30i12.2362>

HASHEM, M., MOHARAM, A. M., ZAIED, A. A. & SALEH, F. E. M., Efficacy of essential oils in the control of cumin root rot disease caused by *Fusarium* spp. **Crop Protection**, v. 29, n. 10, p. 1111-1117, out., 2010. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261219410001158>>. Acesso em: 12 set. 2018. DOI: [/doi.org/10.1016/j.cropro.2010.04.020](https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.04.020).

INDEX FUNGORUM. Disponível em <http://www.indexfungorum.org>. Acesso em 10 de março de 2017.

ISMAN, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, v. 19, p. 603-608, 2000. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S026121940000079X>>. Acesso em: 15 set. 2018. DOI: [doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00079-X](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00079-X).

ISMAN, M. B.; MACHIAL, C. M. Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization. **Naturally occurring bioactive compounds**, v. 3, p. 29-44, 2006. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1572557X06030029>>. Acesso em: 20 jun. 2018. DOI: [doi.org/10.1016/S1572-557X\(06\)03002-9](https://doi.org/10.1016/S1572-557X(06)03002-9).

KALEMBA, D.; KUNICKA, A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. **Current Medicinal Chemistry**, v.10, n.10, p. 813-829, mai., 2003. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12678685>>. Acesso em: 28 nov. 2018.

KARAKAYA, A. First Report of Infection of Kiwi fruit by *Pestalotiopsis* sp. in Turkey. **Plant Disease**, v. 85, n. 9, p. 1028-1028, set., 2001. Disponível em: <http://www.apsnet.org/publications/plantdisease/2001/September/Pages/85_9_1028.3.aspx>. Acesso em: 28 set. 2018. DOI: dx.doi.org/10.1094/PDIS.2001.85.9.1028C.

KARLSSON, I. et al. Genus-specific primers for study of *Fusarium* communities in field samples. **Applied and Environment Microbiology**, v.82, p.491–501, 2016.

KEITH, L.M.; VELASQUEZ, M.E.; ZEE, F.T. Identification and characterization of *Pestalotiopsis* spp. causing scab disease of guava, *Psidium guajava*, in Hawaii. **Plant Disease**, St. Paul, v. 90, n. 1, p. 16-23, jan. 2006. Disponível em: <http://www.apsnet.org/publications/plantdisease/2006/January/Pages/90_1_16.aspx>. Acesso em: 28 set. 2018. DOI: dx.doi.org/10.1094/PD-90-0016.

KEDIA, A. et al. Antifungal and antiaflatoxic properties of *Cuminum cyminum* (L.) seed essential oil and its efficacy as a preservative in stored commodities. **International Journal of Food Microbiology**. v.168, n. 169, p. 1-7, out., 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24211773>>. Acesso 15 out. 2018. DOI: [10.1016/j.ijfoodmicro.2013.10.008](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.10.008)

KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia**, 4 ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2005, v. 2, p. 517-522.

KRUGNER, T. L., AUER, C. G. Doenças dos pinheiros (*Pinus* spp.). In KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia**, 4 ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2005, v. 2, p. 517-522.

KUMAR, K. N., et al. Role of *Curcuma longa* L. essential oil in controlling the growth and zearalenone production of *Fusarium graminearum*. **LWT Food Sci. Technol.**, v. 69, p. 522–528, jun. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643816300846>>. DOI: 10.1016/j.lwt.2016.02.005.

LAGO, J. H. G. et al. Benzoic acid derivatives from *Piper* species and their fungitoxic activity against *Cladosporium cladosporioides* and *C. chaetospermum*. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 11, p. 1783–1788, nov., 2004. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/np030530j>>. Acesso em: 12 out. 2018. DOI: 10.1021/np030530j.

LAZAROTTO, M. et al. Doenças de viveiros. In: ARAÚJO, M.M. (org). **Produção de Sementes e Mudanças**. 1. Ed. Santa Maria: Editora UFSM, 2018. Cap 13, p. 448.

LAZAROTTO, M. et al. First report of *Pestalotiopsis clavispora* causing leaf spot of *Carya illinoensis* in Brazil. **Plant Disease**, v. 96, n.12, p. 1826, dez., 2012. Disponível em: <<https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-07-12-0615-PDN>>. Acesso em: 12 nov. 2018. DOI: 10.1094/PDIS-07-12-0615-PDN.

LAZAROTTO, M. et al. Identification and characterization of pathogenic *Pestalotiopsis* species to pecan tree in Brazil. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 49, n.6, p. 440-448, jun., 2014a. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2014000600440>. Acesso em: 13 nov. 2018. DOI: dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2014000600005.

LAZAROTTO, M. et al. Morphological and molecular characterization of *Fusarium* spp. pathogenic to pecan tree in Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n.4, p. 9390-9402, 2014b. Disponível em: <<http://www.funpecrp.com.br/gmr/year2014/vol13-4/pdf/gmr4578.pdf>>. Acesso em: 10 nov. 2018. DOI:10.4238/2014.November.11.5.

LIBERATO, J.R.; COSTA, H. Incidência de antracnose e podridão peduncular em frutos de mamoeiro em Linhares - ES. In: Fitopatologia Brasileira, 30.,1997, Poços de Calda. **Resumos...** Lavras: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 1997. p.276.

LIMA, J. S. et al. Caracterização cultural, morfológica e patogênica de *Lasiodiplodia theobromae* associado a frutíferas tropicais. **Summa Phytopathologica**, v. 39, n. 2, p. 81-88, 2013.

LORENZI, H.; **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas do Brasil**, 4a ed., Instituto Plantarum: Nova Odessa, 2002.

LORENZI, H.; SOUZA, V. C. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APGII**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. p. 85-89.

MACIEL, C.G. et al. *Fusarium oxysporum* e *F. verticillioides* causando *damping-off* em *Pinus* spp. **Revista Ciência Agronômica (UFC. Online)**, Fortaleza, v. 48, n. 1, p. 134-141, jan-marc., 2017. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rca/v48n1/1806-6690-rca-48-01-0134.pdf>>. Acesso em: 27 nov. 2018. DOI: 10.5935/1806-6690.20170015.

MACIEL, C. G. et al. *Lasiodiplodia theobromae* associated with seeds of *Pinus* spp. originated from the northwest of Rio Grande do Sul, Brazil. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.43, n.107, p. 639 -646, 2015. Disponível em: <<http://www.ipef.br/publicacoes/scientia/nr107/cap15.pdf>>. Acesso em: 10 out. 2018.

MAIA, J. G. S.; ZOGHBI, M. G. B.; ANDRADE, E. H. A. Óleos essenciais da Amazônia: inventário da flora aromática. **In: Tópicos especiais em tecnologia de produtos naturais**. Belém: UFPA, NUMA, POEMA, 1998. p. 127-137.

MARCHIORI, J.N. C.; **Dendrologia das angiospermas: das magnoliáceas às flacourtiáceas**. Santa Maria: UFSM. 1997; 271 p.

MARINO, M.; BERSANI, C.; COMI, L. Impedance Measurements to Study the Antimicrobial Activity of Essential Oil from Lamiaceae and Compositae. **International Journal of Food Microbiology**, v. 67, p. 187- 195, 2001.

MARTINS, M. C. et al. Quantificação de Danos Pós-Colheita em Pêssegos na Mercado Atacadista de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, vol. 31(1), p. 5-10, jan - fev 2006.

MENDES, M. A. S. et al. 1998. Fungos em plantas no Brasil. EMBRAPA. 555p.

MICHEREFF, S.J. et al. Importância dos patógenos e das doenças radiculares em solos tropicais. In: MICHEREFF, S.J.; ANDRADE, D.E.G.T.; MENEZES, M. (Eds.). **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, p.1 – 18, 2005

MILANESI, P.M. **Caracterização, toxicidade e patogenicidade de *Fusarium* spp. em genótipos de soja em sistema de plantio direto**. 2009. 91p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

MORAIS, S. M. et al. Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from *Piper* species. **Biochemical Systematics and Ecology**. v. 35, p. 670-675. 2007.

MORANDIM-GIANNETTI, et al. Composition and antifungal activity against *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* and *Cryptococcus neoformans* of essential oils from leaves of *Piper* and *Peperomia* species. **Journal of Medicinal Plants Research**, n.4, v. 17, p. 1810-1814, 2010.

MUNIYANDI, K., et al. Antioxidant and anticancer activities of *Plectranthus stocksii* Hook. f. leaf and stem extracts. **Agriculture Natural Resources**, v. 51, p. 63–73, abr. 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2452316X17302557>>. Acesso em: 12 nov.2018. DOI: 10.1016/j.anres.2016.07.007.

MUNSELL SOIL COLOR CHARTS, Macbeth Division of Kollinorgen Instruments Corporation, 2009.

NIST. **NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library & Search Program**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2010.

OLIVEIRA, R.R. et al. First report of leaf spot caused by *Cladosporium perangustum* on *Syagrus oleracea* in Brazil. **Plant Disease**, v. 98, n. 2, p. 280, fev., 2014. Disponível em: <http://www.apsnet.org/publications/plantdisease/2014/February/Pages/98_2_280.2.aspx>. Acesso em: 20 set. 2018. DOI: dx.doi.org/10.1094/PDIS-06-13-0595-PDN.

PARMAR, V. S. et al. Review article number 122: Phytochemistry of genus *Piper*. **Phytochemistry**, v. 46. n. 4. p. 597-673. 1997. Disponível em: <<https://chemistry.mdma.ch/hiveboard/rhodium/pdf/piper.phytochemistry.pdf>>.

PEREIRA, P.S.X. et al. Efeito de óleo de Nim no crescimento micelial e produção de conídio de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. **Tropical Plant Pathology**. Lavras, v.35, Suplemento, p.12, 2010. DOI: dx.doi.org/10.1590/S0100-54052012000100007.

PERES, C. M. **Nanoencapsulamento do óleo essencial das folhas e frutos de *Xylopia aromatica* Lamm. e sua atividade frente a oviposição de *Bemisia tabaci* (Genn.) (hemiptera: aleroydidae) biótipo b**. 2015. 98 p Dissertação (Mestrado em Agroquímica), Programa de Pós-Graduação em Agroquímica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, 2015.

PINEDA, R.M. et al. Chemical composition and antifungal activity of *Piper auritum* Kunth and *Piper holtonii* C. DC. Against Phytopathogenic Fungi. **Chile an Journal of Agricultural Research**, v. 72, n. 4, p. 507-515, 2012. Acesso em: 27 nov. 2018. DOI: dx.doi.org/10.4067/S0718-58392012000400008.

PINTO, E. et al. Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. **Journal of Medical Microbiology**, 58 (11): 1454-1462, 2009. Disponível: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19589904>>. Acesso em: 24 mar. 2018. DOI: 10.1099/jmm.0.010538-0.

PIZATTO, W. **Avaliação biométrica da estrutura e da dinâmica de uma floresta Ombrófila Mista de São João do Triunfo-PR: 1995 a 1998**. 1999. 172 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1999.

PHILLIPS A. J . L. et al. The Botryosphaeriaceae: genera and species known from culture. **Studies in Mycology** v. 76, p. 51-167, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.3114/sim0021>>.

PLOETZ, R. C. Diseases of Mango. In: PLOETZ, R. C. (Ed.). **Diseases of tropical fruit crops**, Oxford: CABI Publishing, 2003. p. 327-363.

POLETTI, T. et al. First report of stem canker caused by *Lasiodiplodia subglobosa* on *Carya illinoensis* in Brazil. **Plant Disease**, v.100, n. 5, p. 1016-1017, 2016. Disponível em: <<https://apsjournals.apsnet.org/doi/full/10.1094/PDIS-08-15-0948-PDN>>. Acesso em 18 mar. 2018. DOI: doi.org/10.1094/PDIS-08-15-0948-PDN.

POTZERNHEIM, M. C. L. et al. Chemical characterization of essential oil constituents of four populations of *Piper aduncum* L. from Distrito Federal, Brazil. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 42, p. 25-31, jun., 2012. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305197811002602>>. Acesso em: 18 dez. 2018. DOI: doi.org/10.1016/j.bse.2011.12.025.

PUHL M. C. M. N. et al. Antimicrobial activity of *Piper gaudichaudianum* Kuntze and its synergism with different antibiotics. **Molecules**; v. 16, n. 12, p. 9925-9938, jun., 2011. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/16/12/9925>>. Acesso em: 12 dez. 2018. DOI: 10.3390/molecules16129925.

QUINET, A.; BAITELLO, J. B.; MORAES, P. L. R. 2010. Lauraceae. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB008428>>. Acesso em: 15/04/2017.

RABUSKE, J. E. et al. First Report of *Colletotrichum gloeosporioides* Causing Anthracnose Spot on *Cassia fistula* in Brazil. **Plant disease**, v.102, n.6, p.1172, 2018. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PDIS-10-17-1592-PDN>
doi.org/10.1094/PDIS-10-17-1592-PDN

REITZ, R.; KLEIN, R. M.; REIS, A. Projeto Madeira do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: **Herbário Barbosa Rodrigues**, SUDESUL, DRNR, 1988. 525 p.

REGNIER, T., et al. Evaluation of *Lippia scaberrima* essential oil and some pure terpenoid constituents as postharvest mycobiocides for avocado fruit. **Postharvest Biol. Technol.** 57, n. 3, 176–182, sep., 2010. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521410000712>>. Acesso em 12 dez. 2018. DOI: dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.03.010.

RIVAS, S. THOMAS. C.M. As interações Moleculares entre o tomate e a folha moldam o patógeno: *Cladosporium fulvum*. **Revisão anual de Phytopathology**, v. 43, p. 395-436, 2005. Disponível em: <<http://www.worldlingo.com/ma/enwiki/pt/Cladosporium, 2005>>.

RONDON, A.; GUEVARA, Y. 1984. Algunos aspectos relacionados com la muerte regresiva del aguate (*Persea americana* Mill). *Agronomia Tropical* 34: 119-129.

ROUX, J. et al. Diseases of plantation *Eucalyptus* in Uganda. **South African Journal of Science**, v. 97, p. 16-18, 2001.

SANTOS, M. R. A. dos. et al. Antifungal activity of *Piper marginatum* l. (piperaceae) essential oil on in vitro *Fusarium oxysporum* (SCHLECHT). **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 4, n. 1, p. 09-14, jan.-abr., 2011. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/en/busca-de-publicacoes/>-

/publicacao/901838/atividade-fungicida-do-oleo-essencial-de-piper-marginatum-l-piperaceae-sobre-fusarium-oxysporum-schlecht-in-vitro>. Acesso em: 21 dez. 2018.

SANKARAN, K.V.; SUTTON, B.C.; MINTER, D.W. A checklist of fungi recorded on *Eucalyptus*. **Mycological Papers**, v. 170, p. 1-376, 1995.

SARTOR, R. B. **Modelagem, simulação e otimização de unidade industrial de extração de óleos essenciais por arraste a vapor**. 2009. 75p. Dissertação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

SAS INSTITUTE. 2002. SAS/STAT software: changes and enhancements through release 6.12. Cary: Statistical Analysis System Institute, 1167p.

SCHINDLER, B. **Óleo essencial de *Piper gaudichaudianum* Kunth: Rendimento, composição química e atividade fungitóxicas**. 2015. 100 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS, 2015.

SCHINDLER, B.; HEINZMANN, B. M. *Piper gaudichaudianum* Kunth: seasonal characterization of the essential oil chemical composition of leaves and reproductive Organs. **Braz. arch. biol. Technol**, v. 60, n. 17, 2017. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S151689132017000100603&script=sci_abstract&lng=en>. DOI: doi.org/10.1590/1678-4324-2017160441.

SHAHBAZ, M., Z.; IQBAL, A.; SALLEM, M. A. Association of *Lasiodiplodia theobromae* with different decline disorders in mango (*Mangifera indica* L.). **Pakistan Journal Botany**, n. 41, v. 1, p. 359-368, 2009.

SILVA, A.R. **Tudo sobre aromaterapia: como usá-la para melhorar sua saúde física, emocional e financeira**. 2a. Ed. São Paulo SP. Editora Roca Ltda. 2001.

SILVA, D. M. H.; BASTOS, C. N. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de *Piper* sobre *Crinipellis perniciosas*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 143-145. 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-41582007000200008>. DOI: doi.org/10.1590/S0100-41582007000200008.

SILVA, D. T. et al. Análise do efeito da sazonalidade sobre o rendimento do óleo essencial das folhas de *Nectandra grandiflora* Nees. **Revista Árvore (Online)**, v. 39, n.6, p. 1065-1072, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622015000601065&lng=pt&lng=pt>. Acesso em: 25 jun. 2018. DOI: doi.org/10.1590/0100-67622015000600009.

SILVA, D. T. et al. Chemical composition and inhibitory effects of *Nectandra grandiflora* leaves essential oil against wood decay fungi. **Drewno**, V. 59, N. 197, 2016. Disponível em: <<http://drewno-wood.pl/pobierz-235>>. Acesso em: 18 dez. 2018. DOI: 10.12840/wood.1644-3985.C29.10.

SILVA, D. T. **Caracterização química e atividades biológicas de extrativos obtidos de *Nectandra grandiflora* Nees e *Ocotea lancifolia* (Schott) Mez.** 2016. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2016.

SILVA, D. T. et al. *Nectandra grandiflora* by-products obtained by alternative extraction methods as a source of phytochemicals with antioxidant and antifungal properties. **Molecules**, v.23, 372-387, 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29425157>>. Acesso em: 20 dez. 2018. DOI: 10.3390/molecules23020372.

SILVA, R. S. et al. Óleo essencial de limão no ensino da cromatografia em camada delgada. **Química Nova**, v. 32, n. 8, p. 2234-2237, 2009.

SIMÕES, C. M. O. et al. Farmacognosia: da Planta ao Medicamento. 2 ed. Florianópolis: Edda UFSC; Porto Alegre: Artmed, 2000.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos essenciais. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento.** 5ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS / Editora da UFSC, 2004. p. 467-495.

SIVAKUMAR, D., BAUTISTA-BAÑOS, S. A review on the use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality. **Crop Protection**, v.64, p. 27–37, out., 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261219414001756>>. Acesso em: 05 dez. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2014.05.012>.

SLIPPERS B., WINGFIELD M.J. Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact. **Fungal Biology Reviews**. v. 21, p. 75-89, 2007.

SOIDROU, S. H. et al. Fungicidal activity of four essential oils from *Piper capense*, *Piper borbonense* and *Vetiveria zizanioides* growing in Comoros against fungi decay wood. **The Journal of Essential Oil Research**, 25, n. 3, p. 216-223, 2013. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10412905.2013.767758>>. Acesso em: 21 jan.2017. DOI: doi.org/10.1080/10412905.2013.767758.

SOUZA, J. A. **Estudo da biodegradação do ácido 2,4-diclorfenoxiacético em formulações de liberação controlada.** Tese (Programa de Pós-Graduação da Universidade de Campinas), 1999.

SCHEUERELL, S. and MAHAFFEE, W. Compost tea: Principles and prospects for plant disease control. **Compost Science & Utilization**, v. 10, p. 313-338, 2002. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/1065657X.2002.10702095>>. Acesso em: 12 dez. 2018. DOI: doi.org/10.1080/1065657X.2002.10702095.

SHARIFI-RAD, J. et. al. Biological Activities of Essential Oils: From Plant Chemoecology to Traditional Healing Systems. **Molecules**, v.22, n.70, jan., 2017. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/22/1/70>>. Acesso em: 18 dez. 2018. DOI: 10.3390/molecules22010070.

SWAMY, M. K., AKHTAR, M. S., & SINNIHAH, U. R. Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: An updated review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2016. 2016. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/ecam/2016/3012462/>>. Acesso em: 20 dez. 2018. DOI: [dx.doi.org/10.1155/2016/3012462](https://doi.org/10.1155/2016/3012462).

SUMMERELL, B.A. et al. Biogeography and phylogeography of *Fusarium*: a review. **Fungal Diversity**, v.44, p.3, 2010.

TEIXEIRA, S.D., **Estudo Fitoquímico de *Piper gaudichaudianum* e sua Interação com Morcegos Frugívoros**. Curitiba. 105p. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

TIAN, J. et al. The control of *Aspergillus flavus* with *Cinnamomum jensenianum* Hand.Mazz essential oil and its potential use as a food preservative. **Food Chemistry**, v. 130, p. 520-527, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814611010223>>. Acesso em: 27 nov. 2018. DOI: doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.061

TONINI H., FINGER C.A.G., SCHENEIDER P.R., O crescimento da *Nectandra megapotamica* (Spreng.) Mez em floresta nativa na Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural** Santa Maria 2003; 33(1): 85-90.

UENO, B. Doenças fúngicas. In: ANTUNES, L.E.C. (Ed. Tec.). **Sistema de produção da amoreira-preta**. Embrapa Clima Temperado (Sistemas de Produção, 12). Setembro 2008.

VANHOUTTE, I., Audenaert, K., and De Gelder, L. Biodegradation of mycotoxins: tales from known and unexplored worlds. **Front. Microbiol.** v.7, n. 561, abr., (2016). Disponível em: DOI:10.3389/fmicb.2016.00561 <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.00561/full>

VITTI, A. M.S.; BRITTO, J. O. Óleo essencial de eucalipto. **Documentos Florestais**, n.17, p.1-26, 2003.

XUE et al. First report of *Pestalotiopsis clavispora* causing root rot on blueberry in China. **Plant Disease**, v.102, n 8, p -1655, Ago., 2018. Disponível em: <<https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PDIS-01-18-0138-PDN>>. Acesso em: 12 dez. 2018. DOI: doi.org/10.1094/PDIS-01-18-0138-PDN.

ZAMBONELLI, A.; Aulerio, A.Z.; Bianchi, A.; Albasini, A. Effects of essential oils on phytopathogenic fungi *in vitro*. **Journal of Phytopathology**. Berlim. v.144, p.491-494, 1996. DOI: doi.org/10.1111/j.1439-0434.1996.tb00330.x

ZUCCHI, T.D.; MELO, I.S. de. Controle biológico de fungos aflatoxigênicos. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p.69-94.

WALKER, C. **Identificação de espécies de *Cladosporium* e a reação de cultivares de nogueira-pecã.** 2016. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2016.

YAN, F., et al. Biocontrol of post-harvest *Alternaria alternata* decay of cherry tomatoes with rhamnolipids and possible mechanisms of action. **Journal Science of Food Agriculture**, V. 95, 1469-1474, jul., 2014. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jsfa.6845>>. Acesso em: 9 dez. 2018. DOI: 10.1002/jsfa.6845.