

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CAMPUS FREDERICO WESTPHALEN  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA:  
AGRICULTURA E AMBIENTE**

Axel Bruno Mariotto

**Óleos essenciais no controle de *Corynespora cassicola* da soja**

Frederico Westphalen, RS  
2023

**Axel Bruno Mariotto**

**Óleos essenciais no controle de *Corynespora cassicola* da soja**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia: Agricultura e Ambiente, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Agronomia**.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dra. Denise Schmidt

Frederico Westphalen, RS  
2023

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Mariotto, Axel Bruno  
Óleos essenciais no controle de *Corynespora cassiicola*  
da soja / Axel Bruno Mariotto.- 2023.  
58 p.; 30 cm

Orientadora: Denise Schmidt  
Coorientador: Braulio Otomar Caron  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Campus de Frederico Westphalen, Programa de Pós  
Graduação em Agronomia - Agricultura e Ambiente, RS, 2023

1. Mancha-alvo 2. Glycine max 3. Ergosterol 4.  
Controle alternativo I. Schmidt, Denise II. Caron,  
Braulio Otomar 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.

Declaro, AXEL BRUNO MARIOTTO, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

**Axel Bruno Mariotto**

**Óleos essenciais no controle de *Corynespora cassicola* da soja**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia: Agricultura e Ambiente, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Agronomia.**

**Aprovado em 19 de janeiro de 2023:**

---

**Denise Schmidt, Dra. (UFSM)**  
(Presidente/Orientadora)

---

**Braulio Otomar Caron, Dr.º. (UFSM)**  
(Co-orientador)

---

**Stela Maris Kulczynsky, Dra. (UFSM)**

---

**Daniele Cristina Fontana, Dra. (Agrobiológica)**

Frederico Westphalen, RS  
2023

Dedico ao meu pai *in memoriam*, a  
minha mãe e ao meu irmão que  
sempre acreditaram no meu sonho.  
Dedico aos brasileiros e brasileiras  
que acreditam e nunca mediram  
esforços para lutar pela ciência e  
educação do nosso país.

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus pelo seu sustento espiritual e pela criação de um Universo incrível que nos faz parecer apenas pequenas criaturas tentando conhecer a sua infinidade.

Agradeço a minha família, o meu pai José Reginaldo Mariotto (*in memoriam*) que me ensinou a ter respeito pelo próximo e nunca se prevalecer sobre ninguém. A minha mãe Mara Fátima de Souza Mariotto que por muitas vezes foi protetora comigo, mas no momento em que decidi me mudar pela primeira vez a mais de mil quilômetros nunca deixou de me apoiar e acreditar em meu sonho. Ao meu irmão Alessandro Wallace Mariotto, ou somente Bilinho, por sempre se mostrar disponível em ajudar no que fosse preciso e por muitas vezes assumindo o papel de pai, já que o nosso teve de partir um pouco cedo. Agradeço a eles por todo apoio desde o dia em que sai de casa para estudar agronomia, nunca mediram esforços em me ajudar e dessa forma me permitiu realizar um sonho.

A minha orientadora e professora Denise Schmidt, minha eterna gratidão pelos anos de convívio e amizade, sempre presente e acreditando em meu potencial. Uma excepcional profissional que nunca faltou com o seu dever, dela levarei muitos ensinamentos para a vida tanto pessoal como profissional.

Ao meu amigo e colega de mestrado Claiton Nardini, obrigado pelos mates amargos de todas as manhãs e amizade desse período tão importante para nós, a você desejo todo o sucesso!

Aos meus amigos Erick Santos, Ruan Bortolloto, Gabriel Coelho e Kellin Andriguetto que me receberam na pensão e ali nasceu uma amizade que foi fundamental em momentos dessa caminhada, agradeço vocês pelas risadas, jantares, hambúrgueres, cervejas e muitos outros momentos compartilhados.

Agradeço a minha amiga Gabriela Sousa que me recebeu durante os primeiros dias e que desde então me ajudou no que foi necessário durante o meu mestrado.

Agradeço aos professores que contribuíram para minha formação ao decorrer do curso, mas especialmente agradeço ao professor Braulio Otomar Caron, a professora Stela Maris Kulczynsky e a professora Gizelli Moiano de Paula por todo conhecimento transmitido, amizade e companheirismo diário. Ao Braulio pelas risadas e importantes conselhos da vida. A Stela pela amizade e ensinamentos da fitopatologia que serve de inspiração para querer continuar nessa linha de pesquisa. A Gizelli pelo companheirismo e de deixar a vida acadêmica um pouco mais leve do que ela aparenta ser.

Agradeço a minha amiga e doutora Daniele Cristina Fontana por muitas vezes tirando dúvidas e presente em mais uma etapa especial em minha vida profissional, obrigado por sempre me ajudar!

Agradeço ao Laboratório de Extrativos Aromáticos, ou então LEA, pois por meio dele realizei boa parte do meu trabalho e aos seus integrantes que por muitas vezes me auxiliaram na condução e avaliação dos experimentos. Obrigado novamente Erick pois sempre esteve disposto a fazer o necessário para me auxiliar, agradeço também os outros integrantes: Eduardo Dominski, Fernanda Moraes, Mariana Cavallin, Eugenio Borges, Micheli e Renan.

Agradeço o senhor Nilton Piovesan e Celia Piovesan que sempre estiveram dispostos a ajudar no que fosse necessário durante minha estadia na pensão ao decorrer desses dois anos.

Agradeço a Secretaria de Apoio Internacional pois por meio deles pude participar do programa ESCALA de Posgrado, onde tive a oportunidade de ficar 40 dias na Universidade Nacional do Litoral – UNL, na cidade de Esperanza, em Santa Fé – Argentina.

Agradeço aos professores que me receberam na UNL e não mediram esforços para transmitirem o máximo de conhecimento nesse curto período de tempo. Obrigado professora Roxanna Maumary pelo primeiro contato e por toda ajuda em me receber na universidade. Obrigado professora Alejandra Favaro por compartilhar o seu espaço da oficina e pelos ensinamentos de análise molecular e Laura Fernandez por todo o auxílio. Obrigado professor Marcos Derita, obrigado pela amizade e ensinamentos de “aceites esenciales” que me foi transmitido e por ter aceitado em ser banca de meu trabalho, mas infelizmente devido a antecipação da data não foi possível a sua participação.

Obrigado UNL por ter aberto as portas, pela oportunidade de intercâmbio, todo auxílio por esse período, e por esse período em especial agradeço a Aline Martineli Batista pela recepção em minha chegada a residência, ali nascia uma amizade e companheirismo que se permanece até hoje, obrigado pelos cafés, conversas, almoços e bons momentos da Argentina, obrigado por mesmo distante estar presente e me auxiliar em momentos necessário, o meu mais sincero obrigado! Obrigado aos amigos que também conheci nessa “pasantia”: José, Andressa, Norma, Germano, Nicolas e outros que foram sempre muito queridos comigo.

À Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e ao campus de Frederico Westphalen, agradeço pelos 7 anos de formação que esta Instituição pública, gratuita e de qualidade me proporcionou. Agradeço ao programa de pós-graduação em Agronomia: Agricultura e Ambiente por ter me proporcionado a oportunidade de realizar o meu mestrado e que hoje sairei de um programa conceituado. Obrigado aos funcionários Valdecir e Fernanda por sempre tirarem minhas dúvidas e auxiliar no que fosse necessário.

Agradeço a CAPES pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho, pois sem esse auxílio certamente não estaria aqui hoje.

Agradeço a EMBRAPA Soja pelo fornecimento do isolado que foi objeto de estudo desse trabalho.

Enfim, agradeço a todos os amigos, colegas, professores e todas pessoas que de alguma forma me ajudaram, incentivaram, e fizeram parte de minha formação. Serei eternamente grato por tudo que aprendi nesse período, hoje saio uma pessoa melhor.

**A vocês, os meus mais sinceros agradecimentos!**



*“Yet such is of the course of deeds that move the wheels of the world: small hands do them because they must, while the eyes of the great are elsewhere.”*

*“No entanto, esse é frequentemente o curso das ações que movem as rodas do mundo: mãos pequenas as fazem porque devem, enquanto os olhos dos grandes estão em outro lugar. ”*

J. R. R. Tolkien – O Senhor dos anéis

## RESUMO

### Óleos essenciais no controle de *Corynespora cassiicola* da soja

AUTOR: Axel Bruno Mariotto  
ORIENTADORA: Denise Schmidt

O aumento da produção agrícola nos últimos anos evidencia alguns problemas que anteriormente não passava de pequenos obstáculos, mas com a expansão dos cultivos em muitas regiões do Brasil, houve concomitantemente aumento de problemas fitossanitários, sendo um dos maiores desafios para os sojicultores. A soja possui ótimos programas de aplicações químicas para as principais doenças, mas doenças secundárias atualmente se destacam, como Mancha-alvo, causada por *Corynespora cassiicola* que é patogênica a diversos hospedeiros e com potencial de resistência a vários fungicidas. A utilização de óleos essenciais e seus constituintes químicos majoritários no manejo fitossanitário vem como método alternativo ao controle químico, visando menor risco ao ambiente e a seleção de patógenos resistentes. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a ação de óleos essenciais de oito espécies de plantas aromáticas, em oito doses, no controle do crescimento micelial de *C. cassiicola* e verificar a inibição da síntese de ergosterol na membrana plasmática do fungo. O trabalho foi realizado em dois experimentos, o primeiro foi a atividade antifúngica *in vitro* dos óleos essenciais. O segundo foi o efeito dos óleos essenciais na inibição da síntese do ergosterol. Os dois experimentos foram realizados no Laboratório de Extrativos Aromáticos da Universidade Federal de Santa Maria, campus Frederico Westphalen, no ano de 2022. O experimento *in vitro* teve o delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema bifatorial 8 x 9, sendo oito óleos essenciais OE1, OE2, OE3, OE4, OE5, OE6, OE7 e OE8) e nove doses (0,0; 0,3; 0,6; 0,9; 1,2; 1,5; 1,8; 2,1 e 2,4  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ), utilizando fungicida a base de fluxapiraxade + piraclostrobina (1,5  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ) a fim de comparações. Avaliações de crescimento fúngico foram realizadas durante um período de 10 dias. Após esse período, verificou-se no experimento *in vitro* que os óleos essenciais OE1, OE2, OE3, OE4 e OE8 demonstraram os melhores resultados promovendo inibição total do patógeno, assim como o fungicida. Para o experimento da inibição do ergosterol, foi avaliado a dose de 1,5  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , escolhida com base nos resultados obtidos do ensaio *in vitro*, foram incubados os tratamentos em placas de Petri semelhante ao experimento anterior e após seis dias observou-se que os óleos essenciais OE1, OE2, OE3, OE4, OE5 e OE8 demonstraram os melhores resultados com a inibição total da síntese de ergosterol do isolado. Os óleos essenciais testados no presente trabalho demonstraram efeitos satisfatórios no controle de *C. cassiicola* e podem ser uma alternativa viável para o seu controle.

**Palavras-chaves:** Mancha alvo. *Glycine max*. Ergosterol. Controle alternativo.

## ABSTRACT

### Essential oils in the control of *Corynespora cassiicola* in soybean

AUTHOR: Axel Bruno Mariotto

ADVISER: Denise Schmidt

The increase in agricultural production in recent years highlights some problems that were previously nothing more than minor obstacles, but with the expansion of crops in many regions of Brazil, there has been a concomitant increase in phytosanitary problems, being one of the greatest challenges for soybean farmers. Soybean has excellent chemical application programs for the main diseases, but secondary diseases currently stand out, such as Target Spot, caused by *Corynespora cassiicola*, which is pathogenic to several hosts and with potential resistance to several fungicides. The use of essential oils and their major chemical constituents in phytosanitary management comes as an alternative method to chemical control, aiming at lower risk to the environment and the selection of resistant pathogens. The objective of the present work was to evaluate the action of essential oils from eight species of aromatic plants in nine doses, in the control of mycelial growth of *C. cassiicola* and to verify the inhibition of ergosterol synthesis in the plasmatic membrane of the fungus. The work was carried out in two experiments, the first was the in vitro antifungal activity of essential oils. The second was the effect of essential oils on inhibiting ergosterol synthesis. The two experiments were carried out at the Federal University of Santa Maria, Frederico Westphalen campus in the year 2022. The in vitro experiment had a completely randomized experimental design in a bifactorial 8 x 9 scheme, with eight essential oils (OE1, OE2, EO3, EO4, EO5, EO6, EO7 and EO8) and nine doses (0.0; 0.3; 0.6; 0.9; 1.2; 1.5; 1.8; 2.1 and 2.4  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ), and using fluxapyroxad + pyraclostrobin-based fungicide (1.5  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ) for comparison purposes. Fungal growth assessments were performed over a period of 10 days. After this period, it was verified in the in vitro experiment that the essential oils OE1, OE2, OE3, OE4 and OE8 showed the best results demonstrating total inhibition of the pathogen, as well as the fungicide. For the ergosterol inhibition experiment, a dose of 1.5  $\mu\text{L mL}^{-1}$  was evaluated, chosen based on the results obtained from the in vitro assay, the treatments were incubated in petri dishes similar to the previous experiment and after six days the It was found that the essential oils OE1, OE2, OE3, OE4, OE5 and OE8 showed the best results with total inhibition of the isolated ergosterol synthesis. The essential oils tested in the present work demonstrated satisfactory effects in the control of *C. cassiicola* and can be a viable alternative for its control.

**Keywords:** Target spot. *Glycine max*. Ergosterol. Alternative control.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Conidióforos e conídios de <i>Corynespora cassiicola</i> .....	15
Figura 2 – Sintoma da mancha-alvo em folíolo de soja .....	18
Figura 3 – Produtos indicados para o controle da mancha-alvo em soja .....	21
Figura 4 – Representação esquemática das etapas do ensaio <i>in vitro</i> para avaliar a aplicação de óleos essenciais em <i>C. cassiicola</i> . Frederico Westphalen, 2023. ....	27
Figura 5 – Representação esquemática das etapas do efeito dos óleos essenciais na inibição da síntese do ergosterol de <i>C. cassiicola</i> . Frederico Westphalen, 2023.....	29
Figura 6 – Efeito no Crescimento Micelial (CM) de <i>C. cassiicola</i> em diferentes óleos essenciais, Frederico Westphalen 2023. ....	32
Figura 7 – Índice de Velocidade de Crescimento Micelial de <i>C. cassiicola</i> em diferentes doses de óleos essenciais, Frederico Westphalen 2023.....	33
Figura 8 – Porcentagem de Inibição de Crescimento de <i>C. cassiicola</i> em diferentes doses de óleos essenciais, Frederico Westphalen 2023.....	34
Figura 9 – Dose efetiva para 50% de controle do crescimento micelial (EC <sub>50</sub> ) de <i>C. cassiicola</i> . Frederico Westphalen, 2023. ....	35
Figura 10 – Perfil espectrofotométrico no UV do ergosterol extraído de <i>C. cassiicola</i> sob tratamento de diferentes óleos essenciais, Frederico Westphalen 2023.....	38

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 – Classificação dos produtos indicados para a cultura da soja .....	21
Tabela 2 – Principais óleos essenciais no mercado mundial .....	24

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
1.1	OBJETIVOS .....	12
1.1.1	Objetivo geral.....	12
1.1.2	Objetivos específicos.....	12
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>13</b>
2.1	SOJA.....	13
2.1.1	História .....	13
2.2	CORYNESPORA CASSIICOLA .....	14
2.2.1	Histórico .....	14
2.2.2	Sobrevivência .....	16
2.2.3	Disseminação.....	16
2.2.4	Infecção.....	17
2.2.5	Colonização .....	17
2.2.6	Reprodução .....	17
2.3	SINTOMATOLOGIA .....	18
2.4	CONTROLE.....	19
2.5	ÓLEOS ESSENCIAIS.....	23
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>26</b>
3.1	OBTENÇÃO DOS ISOLADOS.....	26
3.2	OBTENÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS.....	26
3.3	ATIVIDADE ANTIFÚNGICA <i>IN VITRO</i> DOS ÓLEOS ESSENCIAIS .....	26
3.4	EFEITO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS NA INIBIÇÃO DA SÍNTESE DO ERGOSTEROL .....	28
3.5	ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	30
<b>4</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>31</b>
4.1	ATIVIDADE ANTIFÚNGICA <i>IN VITRO</i> DOS ÓLEOS ESSENCIAIS .....	31
4.2	EFEITO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS NA INIBIÇÃO DA SÍNTESE DO ERGOSTEROL .....	36

<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>39</b>
5.1	ATIVIDADE ANTIFÚNGICA <i>IN VITRO</i> DOS ÓLEOS ESSENCIAIS .....	39
5.2	EFEITO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS NA INIBIÇÃO DA SÍNTESE DO ERGOSTEROL .....	41
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>45</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>46</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A produção agrícola nos últimos anos tem se expandido cada vez mais em muitas regiões do Brasil e com esse fato, aumentou também os problemas fitossanitários, como a incidência de doenças. Estas patologias afetam as plantas em todo o seu ciclo vegetativo e reprodutivo, sendo o manejo fitossanitário um dos maiores desafios para os sojicultores, podendo trazer prejuízos de até 75% na produtividade final da cultura, sem o devido controle (JUHÁSZ et al., 2013).

A soja já está consolidada no Brasil a várias décadas devido a sua importância econômica e aos vários fatores que a colocam nesse patamar, principalmente pelo seu alto teor de proteína, aproximadamente 40%, e o seu teor de óleo, aproximadamente de 20% (CARRÃO-PANIZZI et al., 2021).

O cultivo da soja é acometido por várias doenças causada por fungos, bactérias, nematoides e vírus, no qual reduzem significativamente a produção final. Dentre os patógenos que ocorrem nessa cultura, um de pouca importância até algum tempo atrás tem ganhado destaque a nível nacional e internacional, é o caso do patógeno *Corynespora cassiicola* causadora da mancha-alvo na soja (MOLINA et al., 2022)

O patógeno é problema para várias culturas economicamente importante, além da soja, o que o torna ainda mais preocupante a recentes temas de pesquisa, pois o patógeno pode ocupar uma diversidade de hospedeiros como plantas, nematoides e em humanos, além de ser relatado em mais de 70 países e em mais de 400 espécies de plantas (FARR; ROSSMAN, 2022). Além da sua capacidade de infecção, outro fator preocupante que chama a atenção para o patógeno, conforme o FRAC (*Fungicide Resistance Action Committee*), é que o fungo está presente na lista de patógenos com alto risco de desenvolvimento a resistência aos atuais fungicidas (FRAC, 2019).

Em estudos mais avançados do patossistema seringueira x *C. cassiicola* observou-se que o desenvolvimento do banco de germoplasma com resistência/tolerância ao patógeno demonstrou ser uma estratégia viável (FERNANDO et al. 2010), mas para a soja ainda não tem se mostrado uma estratégia eficiente (SOARES; ARIAS, 2020). Dessa forma, o controle predominante atual do patógeno é o método químico, mas o uso fora das recomendações técnicas além de ocasionar poluição ambiental, pode aumentar a seleção de patógenos resistentes aos princípios ativos dos produtos recomendados (SILVA, 2018).



Como método alternativo ao controle químico, visando menor risco ao ambiente e a seleção de patógenos resistentes, surgem estudos que buscam formas menos agressivas ao meio ambiente e ao produtor. A utilização de óleos essenciais e seus constituintes químicos majoritários, podem apresentar atividade fungitóxica direta que reduz o crescimento micelial de patógenos e a produção de esporos (VILELA et al., 2009). Para compreender melhor a ação dos óleos essenciais sobre o alvo e a relação que ele pode ter com a síntese do ergosterol presente na membrana plasmática do patógeno, em estudos Kedia et al. (2014) mostraram que o óleo essencial pode provocar redução significativa na inibição da síntese de ergosterol.

Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar a atividade antifúngica *in vitro* de óleos essenciais de diferentes espécies de plantas aromáticas no controle de *Corynespora cassicola*, causador da mancha alvo, em plantas de soja e verificar o seu potencial na inibição da síntese de ergosterol do patógeno.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

O trabalho teve por objetivo avaliar a ação de óleos essenciais de espécies de plantas aromáticas em diferentes doses, no controle do crescimento micelial de *Corynespora cassicola* e verificar o potencial das doses óleos essenciais na inibição da síntese de ergosterol na membrana plasmática do fungo.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- i. Avaliar o potencial antifúngico dos óleos essenciais no controle *in vitro* de *Corynespora cassicola*;
- ii. Determinar quais óleos essenciais e suas respectivas doses que apresentam inibição no crescimento *in vitro* do patógeno;
- iii. Verificar o potencial dos óleos essenciais na inibição da síntese do ergosterol.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 SOJA

#### 2.1.1 História

A soja (*Glycine max*) é uma das culturas mais antigas utilizadas na agricultura e a mais importante na agricultura moderna na produção mundial de alimento. Tem como centro de origem a Ásia, na grande China antiga sendo o seu registro mais antigo em 2838 a.C. no herbário *Pen TS' Ao Kang mu* (BONATO; BONATO, 1987). Ao final do século XV a soja tornou-se conhecida mundialmente, mas a cultura só ganhou importância econômica após sua introdução nas Américas, primeiramente nos Estados Unidos e, posteriormente, chegando ao sul do continente, no Brasil e Argentina.

Segundo Gazzoni (2018), a implementação da soja no Brasil ocorreu pelo pesquisador Gustavo D'Utra em 1882 na Bahia, mas devido as condições climáticas do estado baiano e de o material genético ser indicado para clima temperado, não houve a adaptação da cultura. O seu sucesso na produção agrícola só iniciou no período de 1920 a 1940 no Estado do Rio Grande do Sul e, a partir daí, ocorreu sua expansão para outros estados brasileiros.

Atualmente, é a cultura de maior importância econômica para o Brasil e o mundo, estando ligada direta e indiretamente a alimentação animal e de toda população mundial. Além dessa importância, a soja apresenta elevado valor nutricional com teor de proteína, de aproximadamente 40%, e teor de óleo, de aproximadamente 20%. (CARRÃO-PANIZZI et al., 2021)

A espécie é uma planta herbácea, da família *Fabaceae* (Leguminosas), uma das famílias mais importantes para a agricultura ficando atrás somente da *Poaceae* (gramíneas), trata-se de uma planta anual e o seu ciclo pode variar de 70 a 200 dias dependendo do material genético utilizado. Possui hábito de crescimento ereto a prostrado do tipo determinado, indeterminado ou semideterminado (MATSUO et al. 2022).

A produtividade da soja depende de vários fatores para o seu sucesso e entre eles estão a época de semeadura, espaçamento, local de produção relacionado ao fotoperíodo, disponibilidade de nutrientes e um bom manejo fitossanitário (SEIXAS et al., 2020). A incidência de doenças pode levar de 15 a 20% de perdas e a mancha-alvo pode causar perdas de até 42% (MOLINA et al, 2019).

## 2.2 CORYNESPORA CASSIICOLA

### 2.2.1 Histórico

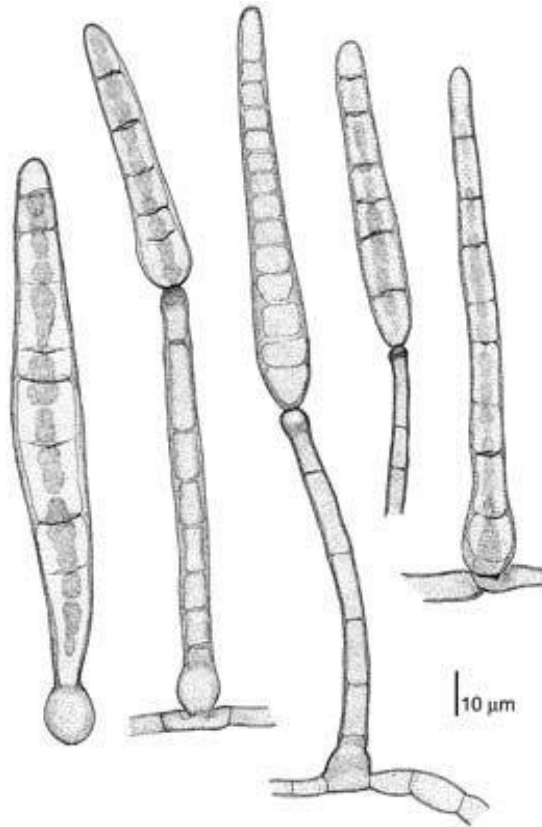
A *Corynespora cassiicola*, conhecida como mancha-alvo ou mancha de corinespora foi descrita pela primeira vez como *Helminthosporium cassiicola* por Berkeley e Curtis (1868) e foi reclassificada por sua nomenclatura atual por C. T. Wei (1950). Este patógeno pertence ao Reino *Fungi* Filo *Ascomycota*, classe *Dothidiomycetes*, onde dentro dessa classe possui muitos patógenos de plantas, epífitos, endófitos ou saprófitos. *C. cassiicola* pode ser encontrada nos trópicos, subtropicais e em casa de vegetação por todo o mundo, pode sobreviver no ambiente de forma patogênica, saprofítica e endofítica, observado apenas de forma anamórfica (SCHLUB et al., 2007).

O patógeno já foi relatado em diversas culturas de importância econômica de forma infecciosa, como a seringueira, tomate, pepino, algodão, tabaco e soja (BLAZQUEZ, 1967; DIXON et al., 2009; CONNER et al., 2013; FAJOLA; ALASOADURA, 1973; FULMER et al., 2012; TERAMOTO; PARISI; CUNHA, 2013). Os registros mais recentes encontrados foram na cultura do mirtilo na região central da Flórida (Onofre et al., 2016), batata-doce na China (XU et al. 2016), em guduchi na Índia (MEENA et al., 2022) e em berinjela infectando folhas e frutos nas Filipinas (AUMENTADO; BALENDRES, 2022). O fungo é relatado de forma infectiva em mais de 380 gêneros de plantas e 530 espécies de plantas (MOOH-KOH et al. 2022), incluindo Monocotyledoneae, Dicotyledoneae, Pterophytas e uma *Cycadaceae*.

No Brasil, o patógeno foi relatado pela primeira vez em plantas de soja no ano de 1976 nos Estados de São Paulo e Paraná (ALMEIDA; YAMASHITA, 1976). Atualmente é uma doença encontrada em todas as regiões produtoras de soja, ocorrendo em maior frequência nos anos de alta intensidade de chuvas e temperaturas elevadas, e devido às características que favorecem o patógeno (CELOTO et. al., 2016).

Os fungos do gênero *Corynespora* possui conidióforos únicos com estroma ausente, conídios porosporosos e suportados apicalmente. Segundo Godoy et al. (2016) os conidióforos podem conter de um a 20 septos (4-11 x 44x350 µm) podendo ser isolados ou em grupo, conídios amarronzados (39-520 x 7-22 µm) em cadeia ou isolados de três a cinco septos e de forma variada (Figura 1).

Figura 1 – Conidióforos e conídios de *Corynespora cassiicola*



Fonte: Mycobank - *Corynespora cassiicola* (BERK. & M.A. Curtis) C.T. Wei, Mycological Papers 34: 5 (1950) [MB#296024]

Autores relatam, que em um mesmo ambiente, isolados de *C. cassiicola*, podem variar morfológicamente, cor da colônia, crescimento, produção de esporos, patogenicidade e sua diversidade genética (SOUSA; BENTES, 2014; JAYASINGHE et al. 1997; CELOTO et al., 2016; BRETON et al., 2000; ATAN; HAMID, 2003; ROMRUENSUKHAROM et al., 2005; DIXON et al., 2009; MELO; REIS, 2010).

O ciclo das relações patógeno-hospedeiro tem suma importância para a compreensão do ciclo da doença no patossistema estudado. Na maioria das doenças o ciclo basicamente está separado em cinco processos, o cada qual poderá servir de compreensão para um manejo assertivo no controle do patógeno.

Em relação à origem do inóculo, podem ser denominados de duas formas: ciclo primário, onde a origem do inóculo é externo ao campo de produção e responsável pela introdução da doença, e ciclo secundário, que é originário do próprio campo de produção e de modo geral é o principal responsável pelo desenvolvimento de epidemias policíclicas (AMORIM; PASCHOLATI, 2019). A importância se dá no manejo que deve ser realizado em

cada uma das situações, onde se visa buscar diminuir a fonte de inóculo, assim afetando a sobrevivência do patógeno.

### **2.2.2 Sobrevivência**

A sobrevivência de fitopatógenos é a fase que irá garantir a perpetuação da espécie quando enfrenta fatores adversos como a ausência de hospedeiro susceptível e/ou condições climáticas que o desfavorece (AMORIM; PASCHOLATI, 2019). Dessa forma, os autores ainda concluem que os patógenos contam com várias formas de sobrevivência e sendo classificadas em grandes categorias como: estruturas de resistência, atividade saprofítica, plantas hospedeiras e não hospedeiras e, para alguns outros patógenos, vetores.

O agente da mancha-alvo conta com várias dessas estratégias para sobreviver, sua sobrevivência ocorre em diversos substratos, podendo sobreviver de forma saprofítica em restos culturais, em hospedeiros alternativos, em sementes infectadas, em ambos os casos sendo fonte de inóculo inicial para os campos de produção (GODOY, et al., 2016), ainda, Onesirosan et al. (1974) encontraram isolados do patógeno de *C. cassiicola* em plantas não hospedeiras, sem sintomas da doença, demonstrando sua capacidade epifítica de sobrevivência do fungo.

Apesar do ataque deste patógeno ser mais comum na parte aérea, segundo Oliveira et al. (2012) como a *C. cassiicola* possui clamidósporos como estrutura especializada de resistência, esta estratégia pode viabilizar sua sobrevivência por um período maior se tornando uma importante fonte de inóculo na ausência de hospedeiros vivos ou condições desfavoráveis.

### **2.2.3 Disseminação**

Conforme Amorim e Pascholati (2019) relatam, a disseminação é a fase onde ocorrerá a propagação da doença nos campos de cultivo tanto em escala temporal como espacial e esse processo envolve três subprocessos importantes para o sucesso do patógeno, iniciando pela liberação, dispersão e deposição do patógeno. Estes subprocessos estão atrelados a liberação e a remoção dos propágulos do local onde foi produzido, o transporte a partir da liberação até a sua deposição em determinada superfície.

No caso da *C. cassiicola* da soja, a sua dispersão ocorre de forma passiva sendo dependentes de outros agentes como a ação do vento, respingos de água por gotas de chuva ou irrigação por aspersão, ação do homem e insetos, assim favorecendo a sua disseminação.

#### **2.2.4 Infecção**

A infecção ocorre quando o conídio em superfície do hospedeiro emite o tubo germinativo e permite a penetração na parede celular. Segundo Mesquini (2012) este processo pode variar, pois condições climáticas como o molhamento foliar contínuo por 48 horas e temperatura entre 18 e 32 °C podem favorecer a severidade da doença. O período de latência da doença, tempo entre a infecção e a reprodução, é de cinco a sete dias, sendo favorecido pelas mesmas condições, além da umidade relativa do ar superior a 80%, conforme descrito por Amorim e Pascholati (2019).

Segundo Godoy et al. (2016), temperaturas do solo de 15 a 18 °C são ideais para a infecção radicular, mas o fungo que causa a podridão radicular, apesar de apresentar características semelhantes a isolados de parte aérea de *C. cassicola*, quando inoculado na parte aérea pode causar pequenas lesões necróticas, mas sem evoluir para mancha-alvo.

#### **2.2.5 Colonização**

A colonização é a fase em que o patógeno já está presente no hospedeiro e irá utilizar todo o seu potencial, principalmente químico, para expandir e atacar novas células, ocupando esses espaços a fim de se reproduzir. Dessa forma, os fitopatógenos irão produzir uma infinidade de enzimas, normalmente extracelulares, para a degradação da parede celular e assim estabelecer uma relação nutricional com o hospedeiro, nessas circunstâncias é possível classificá-los em três grupos: biotróficos, necrotróficos (LUTTRELL, 1974) e hemibiotróficos (PARBERY, 1996).

O fungo *C. cassicola* por ser um parasita necrotrófico, coloniza o seu hospedeiro mantendo a relação nutricional, e conseqüentemente matando suas células, através da produção de uma toxina específica a cassicolin (BARTHE et al., 2007), dessa forma garantindo a morte das células e tecidos adjacentes ao local da infecção.

#### **2.2.6 Reprodução**

A fase de reprodução do patógeno poderá acontecer tanto no interior do hospedeiro ou exterior. A maioria dos fungos e bactérias fitopatogênicas se reproduzem no interior do

hospedeiro, como é o caso da *C. cassicola*, no qual produz conídios na área externa infectada da folha e com isso, na maioria dos casos, favorecendo sua disseminação pela água ou vento.

O patógeno tem como característica a ausência de reprodução sexual e para a formação de estruturas reprodutivas necessita de condições de ambiente específicas, como longo período de molhamento foliar, alta umidade relativa do ar, temperaturas em média de 25 °C, e fotoperíodo longos, assim dessa forma se favorece a formação de conidióforos e conídios (AMORIM; PASCHOLATI, 2019).

### 2.3 SINTOMATOLOGIA

A mancha-alvo é uma doença de final de ciclo da cultura da soja, no entanto pode ocorrer em todos os estádios fenológicos da cultura, sendo encontrada normalmente nas folhas baixas, e outras partes da planta como hipocótilos, raízes, caules, ramos, flores e vagens. Nas folhas o sintoma característico são pequenas pontuações amareladas (Figura 2), formando lesões maiores de coloração amarelada em formato de anéis concêntricos, onde o centro é necrótico, se assemelhando a um alvo, atingindo até 2,0 cm (GODOY et al., 2016).

Figura 2 – Sintoma da mancha-alvo em folíolo de soja



Fonte: R. L. Benchimol (CARDOSO et al. 2019)

As cultivares respondem diretamente ao ataque do patógeno, sendo que as consideradas suscetíveis irão apresentar uma desfolha severa com manchas nas hastes e nas vagens. Nos

pecíolos e hastes as manchas são marrom escuras, podendo ser até lesões alongadas mais espessas ao centro e atenuadas nas extremidades. A partir do estágio fenológico R.5 as manchas podem aparecer nas vagens, geralmente são circulares com 1,0 mm de diâmetro, sutilmente deprimidas com o centro roxo ou preto e bordas marrons, períodos de chuvas prolongadas ou alta umidade podem favorecer a junção das manchas e cobrir toda a vagem. Em casos mais específicos, a mancha pode adentrar a vagem e causa pequenas lesões nas sementes.

A presença do inóculo em sementes ou restos culturais podem gerar consequências já na fase de *stand* de plântulas e nesta fase é possível observar podridão radicular, sendo mais comum em sistema de plantio direto. Plantas infectadas irão apresentar amarelecimento das folhas e maturação prematura, será possível também observar lesões circulares no hipocótilo, na raiz principal e laterais, causando anelamento nas raízes laterais. Em uma situação em que ocorre a morte da planta em ambiente favorável, com alta umidade do solo, observa-se lesões ovais de coloração marrom-violeta coberta por uma camada negra de conidióforos e conídios devido à alta esporulação do patógeno, conseqüentemente, aumento da fonte de inóculo, e em estado mais avançados terá a descoloração total da raiz (GODOY et al., 2016).

## 2.4 CONTROLE

O controle de doenças é o objetivo prático mais importante da fitopatologia, onde 30% da produção agrícola mundial é perdida anualmente devido a problemas fitossanitários e a eficiência produtiva procurada pelo homem acaba ocasionando, paradoxalmente, os atuais problemas na agricultura (BERGAMIM FILHO; AMORIM, 2019).

Segundo Godoy et al. (2016) o controle da mancha-alvo baseia-se no uso de cultivares que demonstram resistência ao patógeno, realização do tratamento de sementes, rotação de culturas com milho e outras gramíneas que não apresentam ser hospedeiro do patógeno e a utilização de fungicidas.

O programa de melhoramento da soja sempre buscou aumento da produtividade e resistência as principais doenças que acometem a cultura e dessa forma acabou negligenciando doenças secundárias contribuindo para a seleção de isolados resistentes e como consequência cultivares suscetível a doença. Segundo Soares e Arias (2020) os programas não selecionam linhagens resistentes à mancha-alvo e assim, cultivares menos suscetíveis possuem essa característica ao acaso, isso pelo escasso conhecimento de fontes e herança de resistência da soja a *C. cassiicola*.



Concomitantemente, com o aumento das áreas de cultivo utilizando materiais que não são especificamente resistentes à doença e de outros hospedeiros suscetíveis, como o algodão (GOULART; LAMAS, 2016), nas maiores regiões de produção de soja, favorece o aumento da fonte de inóculo inicial e agrava o problema. Todos esses fatores contribuem para o aumento da mancha-alvo nos campos de produção de soja do país, do Rio Grande do Sul até as chapadas do Cerrado (EMBRAPA, 2013).

No Brasil, diferentes regiões produtoras têm demonstrado bons resultados de controle com a utilização de fungicidas contendo ingredientes ativos como fluxapiraxade e prothioconazol. Para o controle radicular o ideal é a rotação de cultura e a eliminação de solos compactados a fim de evitar condições que favoreça o patógeno. Porém, o uso constante de uma mesma molécula no controle químico pode contribuir para o favorecimento do patógeno a demonstrar resistência a determinados fungicidas, como o caso do MBC (Metil Benzimidazol Carbamatos) e segundo o FRAC (2021) isso se justifica pois dois dos ingredientes ativos desse modo de ação (Carbendazim e Tiofanato-metílico) registrados para a cultura apresentam alto risco de resistência.

Atualmente, existem 123 produtos registrados para o controle da doença na cultura da soja (Figura 3), destes se concentra 30 ingredientes ativos em diferentes formulações e combinações de fungicidas (BRASIL, 2022). Os ingredientes ativos registrados para cultura podem apresentar riscos de resistência, segundo o FRAC (2021) esses riscos são classificados em três níveis, podendo apresentar um risco alto, médio e baixo.

Figura 3 – Produtos indicados para o controle da mancha-alvo em Soja



Fonte: Próprio autor, adaptado Brasil (2022); FRAC (2021)

A utilização de produtos químicos é a forma mais comum para controle de diversos patógenos da cultura e com o surgimento da ferrugem asiática no ano de 2001, vários ensaios e pesquisas estabeleceram um programa de controle químico com a utilização de triazóis, estrobilurinas e clorotalonitrilas (RUPE; SCONYERS, 2008). Para o controle de *C. cassicola* diversos ingredientes ativos estão disponíveis comercialmente, conforme observa-se na Tabela 1, no entanto, o fato da mancha alvo ser uma doença secundária é que muito dos ingredientes utilizados no programa de controle para a ferrugem podem apresentar alto risco de resistência e dessa forma selecionar isolados com resistência.

Tabela 1 – Classificação dos fungicidas indicados para a cultura da soja

Modo de ação	Alvo	FRAC code	Classe química <sup>1</sup>	Risco de Resistência <sup>2</sup>	Ingrediente ativo
Citoesqueleto e proteína motora	Montagem da $\beta$ -tubulina na mitose	1	MBC	A	Carbendazim
		1	MBC	A	Tiofanato-metilíco

Respiração	Complexo II: succinato- desidrogenase	7	SDHI	M	Benzovindiflupyr
		7	SDHI	M	Bixafem
		7	SDHI	M	Carboxina
		7	SDHI	M	Impirfluxam
		7	SDHI	M	Pidiflumetofeno
		7	SDHI	M	Fluxapiroxade
		7	SDHI	M	Boscalida
	Complexo III: citocromo bc1 (ubiquinol oxidase) no sítio Qo (gene ccyt b)	11	Qol	A	Azoxistrobina
		11	Qol	A	Picoxistrobina
		11	Qol	A	Piraclostrobina
		11	Qol	A	Cresoxima-metilíco
		11	Qol	A	Trifloxistrobina
		11	Qol	A	Dimoxistrobina
		11	Qol	A	Metominostrobin
	desacopladores da fosforilação oxidativa C14-	29	-	B	Fluazinam
Biossíntese de esterol em membranas	demetilase na biossíntese de esteróis (erg11/cyp51)	3	DMI	M	Ciproconazol
		3	DMI	M	Difenoconazol
		3	DMI	M	Epoxiconazol
		3	DMI	M	Flutriafol
		3	DMI	M	Metconazol

		3	DMI	M	Mefentrifluconazol
		3	DMI	M	Tebucanazol
		3	DMI	M	Protioconazol
Produtos químicos com atividade em vários locais	Multisítio	M1	Inorgânico	B	Oxicloreto de cobre
			ditiocarbamatos		
		M3	e familiares (eletrófilos)	B	Mancozebe
			ditiocarbamatos		
		M3	e familiares (eletrófilos)	B	Metiram
			ditiocarbamatos		
		M3	e familiares (eletrófilos)	B	Tiram
			cloronitrilas (ftalonitrilas)		
		M5		B	Clorotalonil

<sup>1</sup> Classe química MBC: metil benzimidazol carbamatos, SDHI: Inibidores da succinato desidrogenase, QoI: Inibidores externos quinona, DMI: Inibidores de desmetilação.

<sup>2</sup> Risco de resistência A: Alto, M: Médio e B: Baixo.

Fonte: Próprio autor, adaptado Brasil (2022); FRAC (2021)

A não rotação de moléculas e o uso contínuo de uma mesma molécula de fungicida pode induzir a redução de sensibilidade do patógeno, como efeito, ocasionando uma endemia em uma região (XAVIER et al., 2013). Assim, estratégias que visam alternativas para o controle da doença se mostram importantes para uma melhor compreensão.

## 2.5 ÓLEOS ESSENCIAIS

Como forma alternativa de controle, os óleos essenciais têm ganhado destaque, principalmente, tratando-se de agricultura sustentável visando menor impacto ambiental e melhor qualidade de vida dos produtores e consumidores final. Dessa forma, várias pesquisas com o estudo da utilização de óleos essenciais na forma de controle de fitopatógenos mostra a

sua importância para maior compreensão dessa interação e uma possível alternativa para a agricultura moderna.

Existem inúmeras plantas com a capacidade de se extrair óleos essenciais onde sua composição química pode apresentar propriedades importantes para a agricultura como atividade antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes, repelentes, onde sua composição esta intrínseca com sua espécie botânica e/ou até mesmo ao seu ambiente de produção (OOTANI et al., 2013).

Os óleos essenciais não são ferramentas atuais e tampouco moderna, já está presente na história da humanidade a milhares de anos, quando diversas culturas do mundo utilizavam partes de plantas com finalidades religiosas, medicinais e cosméticas (SERAFINI et al., 2002). A origem exata da sua primeira utilização é desconhecida, mas a teoria mais aceita é que a partir da queimada de plantas aromáticas, percebeu-se que estas produziam um aroma agradável e com isso passou a ser usado com essa finalidade no cozimento com alguns alimentos (TISSERAND, 1993).

Segundo Santos (2011), cerca de três mil óleos essenciais são conhecidos, mas desses somente 300 tipos são explorados industrialmente variando em quantidades e preços unitários (preço/quilograma). Na Tabela 2 é possível observar os principais óleos essenciais no mercado mundial.

Tabela 2 – Principais óleos essenciais no mercado mundial

Óleo essencial	Espécie
Laranja (Brasil)	<i>Citrus sinensis</i>
Menta japonesa (Índia)	<i>Mentha arvensis</i>
Eucalipto (cineol)	<i>Eucalyptus globulus, E. polybractea e Eucalyptus spp.</i>
Citronela	<i>Cymbopogon winterianus</i>
Hortelã-pimenta	<i>Mentha x piperita</i>
Limão	<i>Citrus limon</i>
Eucalipto (citronela)	<i>Corymbia citriodora</i>
Cravo-da-Índia	<i>Syzygium aromaticum</i>
Cedro (EUA)	<i>Juniperus virginiana</i>
Lima destilada (Brasil)	<i>Citrus aurantifolia</i>

Hortelã	<i>Mentha spicata</i>
Cedro (China)	<i>Clamaecyparis funebris</i>
Lavanda	<i>Lavandula angustifolia</i>
Sassafrás (China)	<i>Cinnamomum micranthum</i>
Cânfora	<i>Cinnamomum camphora</i>
Coentro	<i>Coriandrum sativum</i>
Grapefruit	<i>Citrus paradisi</i>
Patchouoli	<i>Pogostemom cablin</i>

---

Fonte: Adaptado de Bizzo, Hovell e Rezende (2009)

Os óleos essenciais podem ser obtidos através de diversas partes vegetativas e reprodutivas das plantas como: folhas, rizomas, raízes, cascas, madeira, flores e frutos e exemplo desses óleos são capim limão (*Cymbopogon citratus* Stapf.), cúrcuma (*Curcuma longa* L.), ventiver (*Vetiveria zizanoides* L.), canela (*Cinnamomum zeylanicum* Bl.), cânfora (*Cinnamomum camphora* L.), lavanda (*Lavandula angustifolia* Mill) e limão (*Citrus limom* Burm.), respectivamente. Seu rendimento pode variar dependendo da espécie e fatores ambientais na produção, para algumas espécies pequenas quantidades de óleo como 0,01% (rosas e jasmim) e até 16% (cravo-da-índia) em relação a massa das plantas utilizadas (HABER; CLEMENTE, 2013).

Como definido pela International Stand Organization (ISO), os óleos essenciais são produtos do metabolismo secundário das plantas, são chamados também de óleos voláteis, óleos etéreos e essências, onde a sua extração das várias partes da planta é pelo processo de destilação por arraste a vapor de água ou pelo esmagamento dos pericarpos dos frutos cítricos (HABER; CLEMENTE, 2013).

Os metabólitos secundários presente nas espécies com a finalidade da extração de óleos essenciais, são produtos naturais ou secundário das plantas, em geral eles não apresentam funções reconhecidas diretamente nos principais processos como fotossíntese, respiração, transporte de solutos, translocação, síntese de proteínas, assimilação de nutrientes ou na produção de metabólitos primários, conforme Taiz et al. (2017) nos explicam e ainda completam que durante muitos anos se desconhecia sua importância nas plantas, mas atualmente estudos mostram funções ecológicas importantes nos vegetais.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 OBTENÇÃO DOS ISOLADOS

Os isolados de *Corynespora cassiicola* foram fornecidos através de acordo pela Embrapa Soja que disponibilizou o material biológico. O isolado CMES (Coleção de Microrganismos de Interesse para a Agricultura da Embrapa Soja), nominado CMES 1984 coletado sob coordenadas S 21°37'9,6" – W 55°08'13,5", no dia 30/01/2018, no município de Maracaju/MS.

#### 3.2 OBTENÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais utilizados nos ensaios foram obtidos a partir da extração de material vegetal, cultivado no horto do Laboratório de Extrativos Aromáticos, alocado ao Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais da Universidade Federal de Santa Maria, *campus* de Frederico Westphalen, Rio Grande do Sul.

Com a finalidade de preservar os nomes das espécies utilizadas, por motivos de patenteabilidade, foram atribuídos códigos para cada óleo essencial (OE) seguindo de um número da seguinte forma: OE1, OE2, OE3, OE4, OE5, OE6, OE7 e OE8.

A extração de cada óleo essencial foi realizada a partir de folhas frescas das plantas do horto por meio de destilação por arraste a vapor para os óleos OE2, OE3, OE4, OE5, OE6 e para os óleos OE1, OE7 e OE8 foram obtidos por extração através de hidrodestilação com aparelho do tipo *clevenger*, ambos métodos seguindo as recomendações de tempo para cada espécie conforme indicado na Farmacopédia Brasileira (BRASIL, 2010). Após procedimento de extração os óleos essenciais foram acondicionados em frascos de vidro âmbar e armazenados em freezer.

#### 3.3 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA *IN VITRO* DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

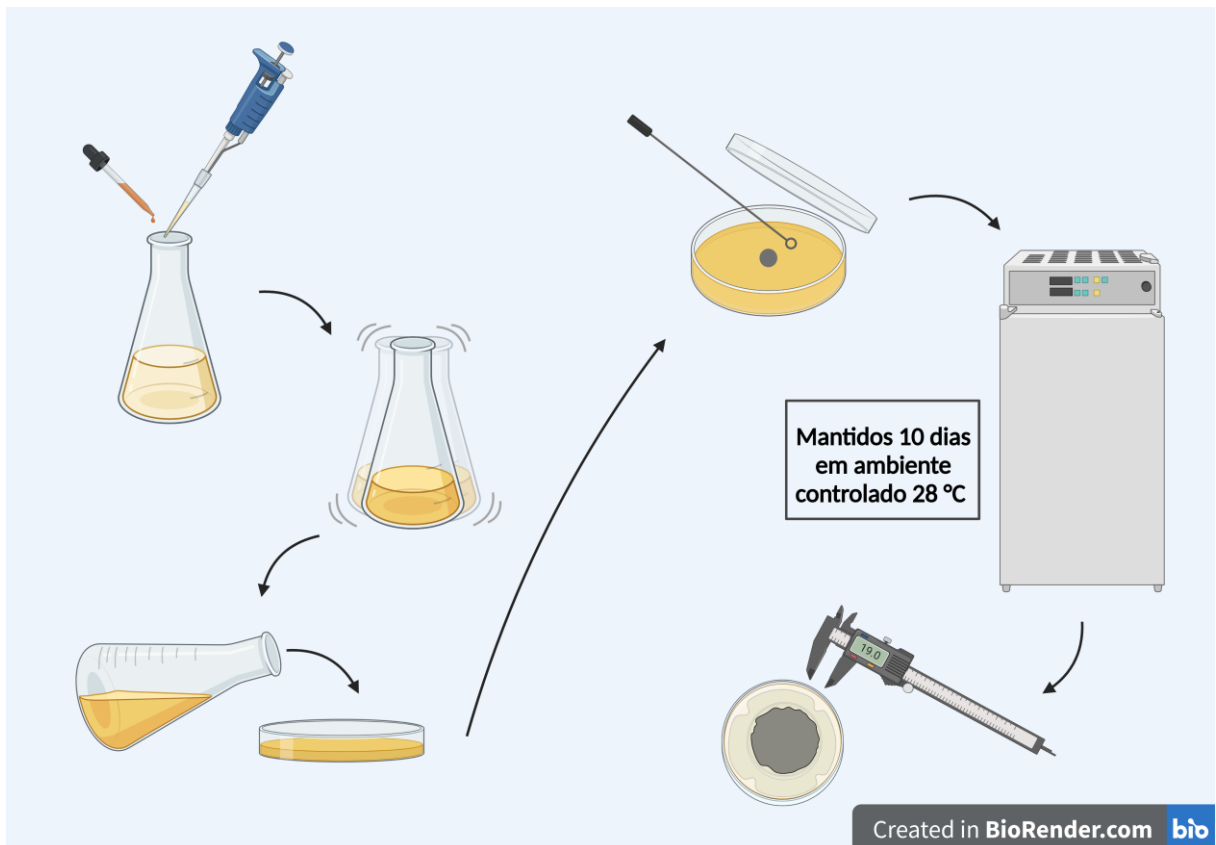
O primeiro experimento foi realizado no Laboratório de Extrativos Aromáticos da Universidade Federal de Santa Maria, *campus* Frederico Westphalen no ano de 2022.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema bifatorial 8 x 9, sendo oito óleos essenciais e nove doses (0,0; 0,3; 0,6; 0,9; 1,2; 1,5; 1,8; 2,1 e

2,4  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ), e foi utilizado um teste com fungicida a base de fluxapiroxade + piraclostrobina (1,5  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ) para comparação do efeito fungicida dos óleos essenciais. Totalizou-se 66 tratamentos com cinco repetições cada, um total de 330 placas Petri de poliestireno natural estéril por radiação ionizante (Olen<sup>®</sup>), onde cada placa representa uma unidade experimental.

Os isolados fornecidos pela Embrapa, foram multiplicados dias antes da instalação do experimento para renovação do patógeno. Para a realização do ensaio, preparou-se o meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) em erlenmeyer de 250 ml. Após, em câmara de fluxo laminar, foram adicionados ao meio de cultura os OEs em suas respectivas doses com acréscimo de uma gota de surfactante TWEEN<sup>®</sup> 20/0,3  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  de OE, conforme pode-se observar na Figura 4. O meio contendo os tratamentos foram vertidos nas placas Petri, que após sua solidificação acrescentou-se um disco de micélio de 8 mm do patógeno *C. cassiicola* e, na sequência vedou-se as placas com plástico filme. Os tratamentos foram mantidos em sala de crescimento a 28 °C, com fotoperíodo 12h/12h. Para a dose 0,0  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  utilizou-se apenas o meio de cultura acrescido de surfactante e na utilização do fungicida utilizou-se a dose recomendada do produto.

Figura 4 – Representação esquemática das etapas do ensaio in vitro para avaliar a aplicação de óleos essenciais em *C. cassiicola*. Frederico Westphalen, 2023.





Fonte: Próprio autor (2023)

A avaliação iniciou em 24 horas após a implantação do experimento, realizando mediação diária do diâmetro das colônias, em posição ortogonal, durante 10 dias. No último dia a partir das avaliações determinou-se o crescimento micelial (CM), e com base nos valores médios do tratamento controle foi possível avaliar a variável percentual de inibição do crescimento (PIC) para cada óleo e a partir dos resultados foi possível determinar o valor aproximado da dose efetiva para 50% de inibição do crescimento (DE<sub>50</sub>), sendo, a concentração necessária de cada óleo essencial para inibir 50% o crescimento do patógeno. A variável índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) será dada por meio da equação adaptada por Oliveira (1991):

$$IVCM = \frac{\sum(D - Da)}{n}$$

Em que: *IVCM* = Índice de velocidade de crescimento micelial; *D* = Diâmetro médio atual; *Da* = Diâmetro médio do dia anterior; e *n* = Número de dias após a montagem do experimento.

### 3.4 EFEITO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS NA INIBIÇÃO DA SÍNTESE DO ERGOSTEROL

O segundo experimento foi realizado no Laboratório de Efluentes da Universidade Federal de Santa Maria, *campus* Frederico Westphalen no ano de 2022.

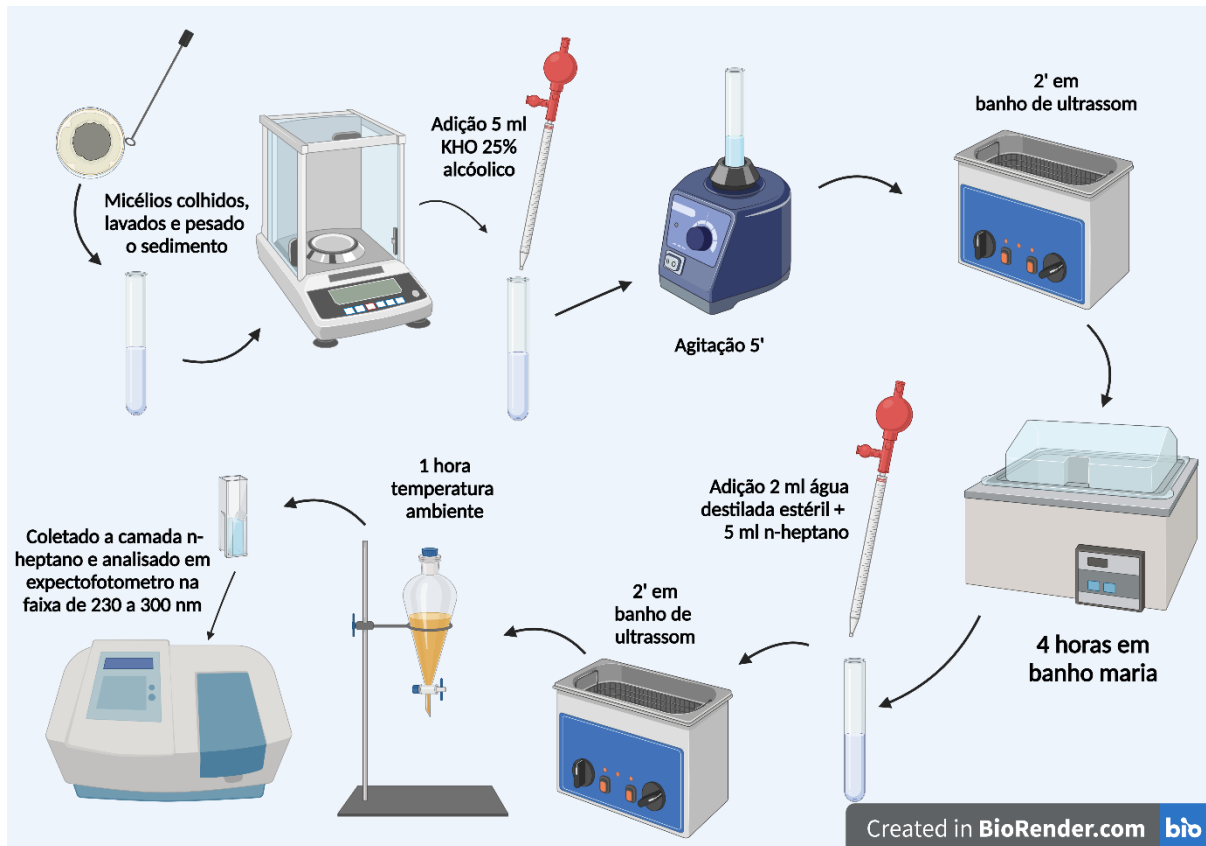
Para a realização dos testes das interações dos óleos essenciais com o patógeno de *C. cassiicola* se utilizou metodologias adaptadas dos trabalhos de Kedia et al. (2014) e Pinheiro et al. (2020). No presente experimento foi avaliado a dose de 1,5 µL mL<sup>-1</sup>, escolhida com base nos resultados obtidos do ensaio *in vitro*, e testado os oito tratamentos do primeiro ensaio e afim de comparação, foi utilizado uma testemunha sem a aplicação dos óleos.

Dessa forma, foram incubados os tratamentos em placas de Petri conforme descrito no experimento anterior e após seis dias, os micélios foram coletados e transferidos para tubos de ensaio, verificando o seu peso úmido com três repetições. Depois foi adicionado 5 mL de uma solução de hidróxido de potássio alcoólico a 25% e na sequência foram agitados em vórtex (QL 901) por cinco 5 minutos, seguido de 2 minutos em banho de ultrassom (USC – 1600) e incubadas por 4 horas em banho maria a 85 °C (QUIMIS Q334M-24).

Os esteróis foram extraídos, após o período de incubação, com a adição de 2 mL de água destilada esterilizada e 5 mL de n-heptano em cada amostra e seguido de 2 minutos em ultrassom com agitações periódicas. Posteriormente, as amostras contendo os esteróis foram transferidas para ampolas de separação e deixadas a temperatura ambiente por 1 hora para a separação das camadas.

Após o período, a camada de n-heptano foi coletada em novos tubos de ensaio e analisado em espectrofotômetro UV VIS (Analytik Jena SPECORD 50 plus) por varredura espectral na faixa de 230 e 300 nm. Para melhor compreensão da metodologia um esquema foi elaborado conforme observa-se na Figura 5.

Figura 5 – Representação esquemática das etapas do efeito dos óleos essenciais na inibição da síntese do ergosterol de *C. cassiicola*. Frederico Westphalen, 2023.



Fonte: Próprio autor (2023)

A presença de ergosterol e de seu intermediário 24 (28)-dehidroergosterol foi caracterizada por uma curva composta por quatro picos. A ausência de ergosterol nas amostras será indicada por uma linha plana. A quantidade de ergosterol foi calculada considerando a porcentagem de peso úmido de cada micélio fúngico, a partir das fórmulas:

$\% \text{ de ergosterol} + \% \text{ 24(28) dehidroergosterol} = (A282/290) / \text{ peso do micélio fúngico};$   
 $\% \text{ 24(28) dehidroergosterol} = (A230/518) / \text{ peso do micélio fúngico};$   
 $\% \text{ de ergosterol} = (\% \text{ de ergosterol} + \% \text{ 24(28) dehidroergosterol}) - \% \text{ de 24(28)}$   
 dehidroergosterol.

Onde:

290 é o valor de E (%/cm) determinado para ergosterol cristalino.

518 é o valor de E (%/cm) determinado para 24 (28) dehidroergosterol.

Peso do micélio fúngico é considerado seu peso úmido (g).

A redução percentual na quantidade de ergosterol foi calculada pela fórmula:

$$(C - T)/C \times 100$$

Onde: C é o percentual de ergosterol no controle e T é o percentual de ergosterol no tratamento avaliado.

### 3.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para o experimento da atividade antifúngica *in vitro*, as variáveis CM, IVCM e PIC foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para determinar os possíveis efeitos de tratamentos. Quando verificado efeito significativo procedeu-se a análise de regressão. Todas as análises dos experimentos foram realizadas com o auxílio do software R (R core Team, 2019), utilizando os pacotes ExpDes (Ferreira et al., 2021).

## 4 RESULTADOS

### 4.1 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA *IN VITRO* DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

De acordo com a análise de variância verificou-se que, todas as variáveis analisadas apresentaram significância para os fatores óleos essenciais x dose. Após realizou-se análise de regressão e observou-se que todas as variáveis foram melhor representadas pela equação cúbica.

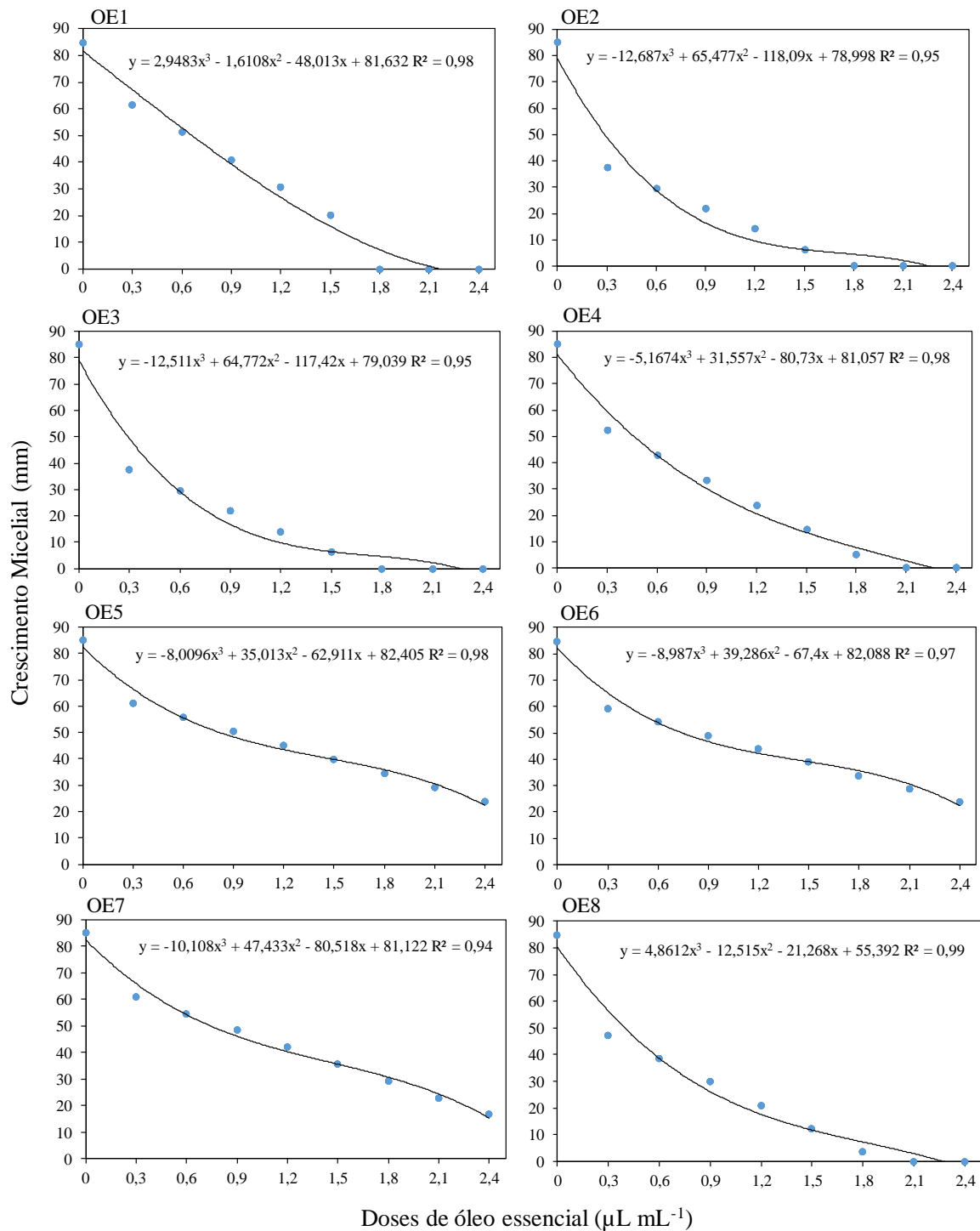
Os óleos essenciais testados no experimento *in vitro*, mostraram resposta positiva no controle de *Corynespora cassiicola*, todos os óleos essenciais provocaram redução no crescimento micelial do patógeno, conforme aumento da dose (Figura 6). Para a variável crescimento micelial (CM), o óleo essencial OE1 na dose de  $2,1 \mu\text{L mL}^{-1}$ , inibiu totalmente o crescimento micelial. A mesma resposta foi observada para os óleos essenciais OE2, OE3, OE4 e OE8 na dose próximo de  $2,2 \mu\text{L mL}^{-1}$ .

Os óleos essenciais OE5, OE6 e OE7 provocaram decréscimo do crescimento micelial, conforme aumento da dose, mas em nenhuma houve controle total do crescimento (Figura 6).

Para a variável Índice de Velocidade de Crescimento (IVCM) o desempenho dos óleos essenciais foi semelhante ao da variável CM. Observa-se na Figura 7 que o óleo essencial OE1 demonstrou decréscimo acentuado no crescimento micelial, até que na dose  $2,1 \mu\text{L mL}^{-1}$  houve paralisação total do crescimento diário do fungo. Resultado semelhante foi observado nos óleos essenciais OE2 e OE3 na dose de  $1,8 \mu\text{L mL}^{-1}$ , no óleo essencial OE4 na dose próxima de  $2,2 \mu\text{L mL}^{-1}$  e para o óleo essencial OE8 foi próximo a  $2,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ , ambos não demonstrando mais crescimento diário. Já para os óleos essenciais OE5, OE6 e OE7 observa-se que, conforme ocorreu aumento das doses, houve redução no crescimento diário do patógeno, no entanto não houve paralisação total.

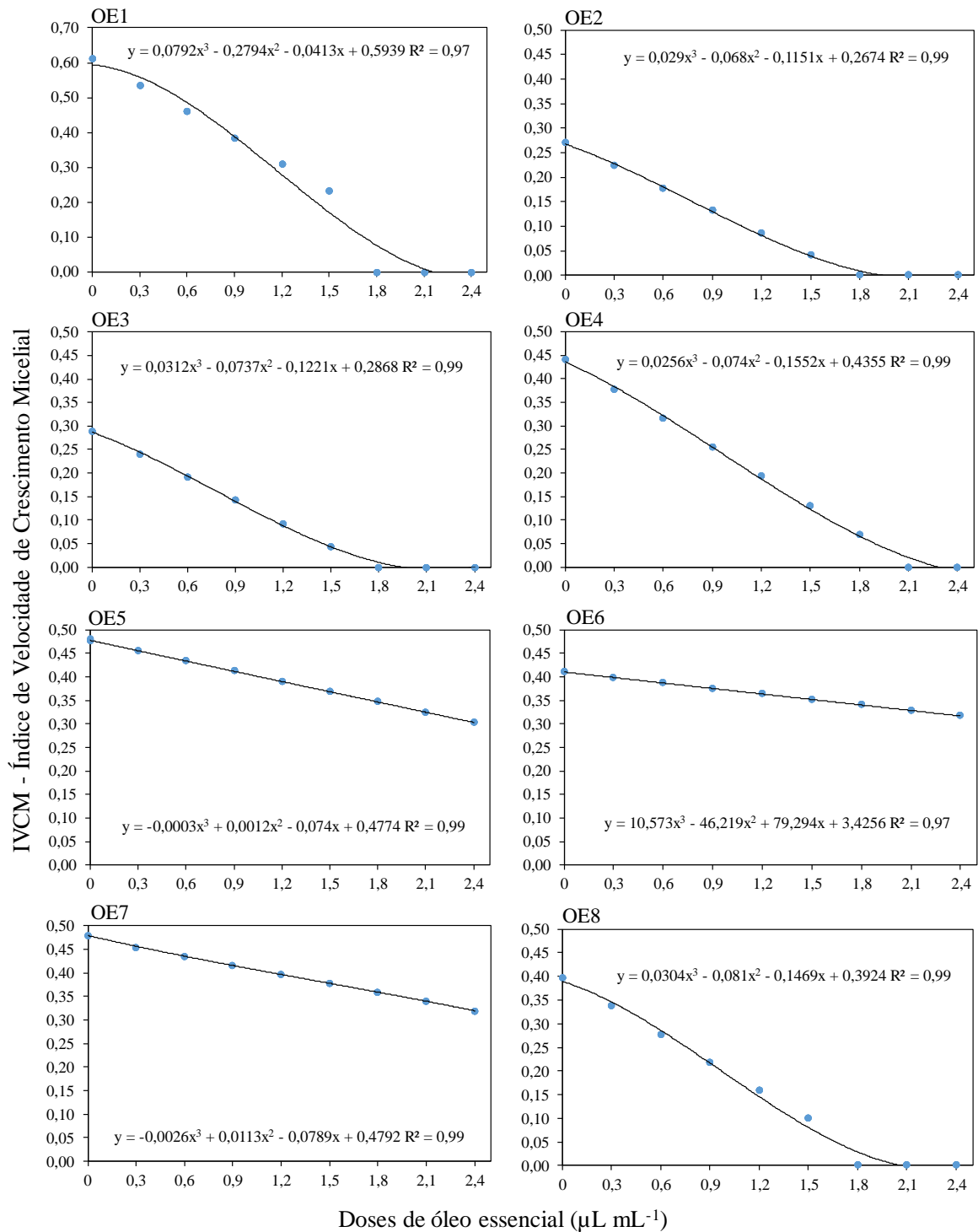
No caso da Porcentagem do Índice de Crescimento (PIC), algumas doses de óleos essenciais apresentaram inibição no crescimento do patógeno. Os óleos OE1, OE2, OE3, OE4 e OE8 alcançaram 100% de controle do crescimento micelial na dose próxima de  $2,2 \mu\text{L mL}^{-1}$ . Os óleos essenciais OE5, OE6 alcançaram controle de 72%, já o óleo essencial OE7 atingiu controle de 80%.

Figura 6 – Efeito no Crescimento Micelial (CM) de *C. cassicola* em diferentes óleos essenciais, Frederico Westphalen 2023.



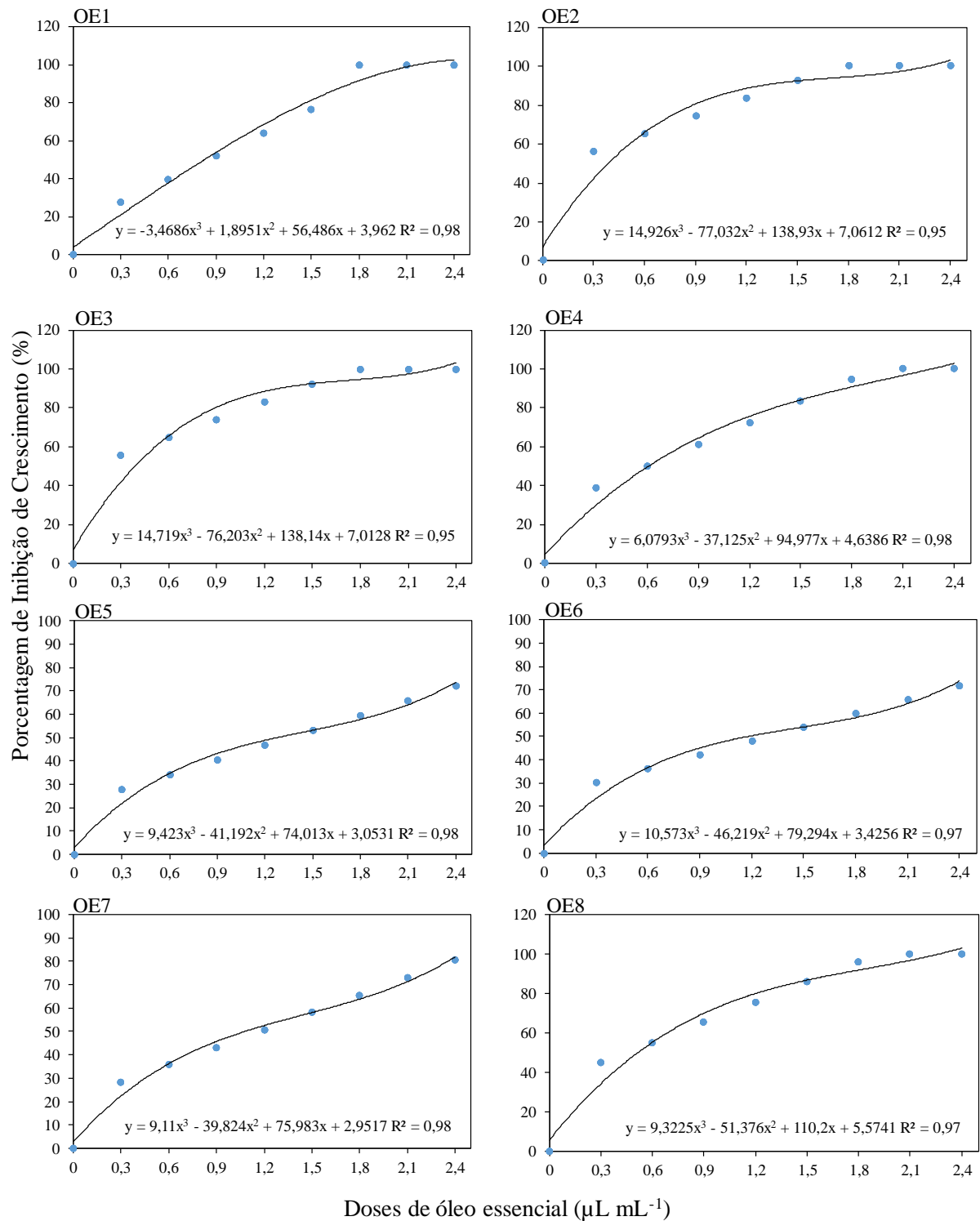
Fonte: Próprio autor (2023)

Figura 7 – Índice de Velocidade de Crescimento Micelial de *C. cassiicola* em diferentes doses de óleos essenciais, Frederico Westphalen 2023.



Fonte: Próprio autor (2023)

Figura 8 – Porcentagem de Inibição de Crescimento de *C. cassiicola* em diferentes doses de óleos essenciais, Frederico Westphalen 2023.

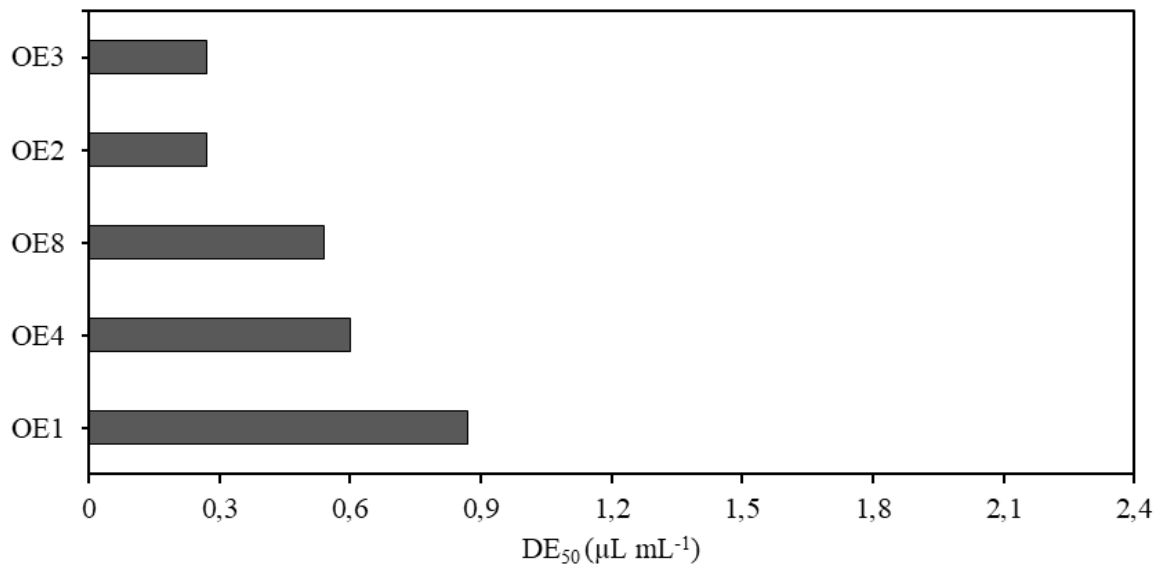


Fonte: Próprio autor (2023)

A partir dos resultados da PIC foi possível determinar as doses efetivas dos óleos essenciais. Na Figura 9 é possível observar o desempenho de cada óleo essencial e sua dose

efetiva, sendo as doses de 0,27; 0,27; 0,54; 0,6; 0,87  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , para os OE3, OE2, OE8, OE4 e OE1, respectivamente.

Figura 9 – Dose efetiva para 50% de controle do crescimento micelial ( $DE_{50}$ ) de *C. cassiicola*. Frederico Westphalen, 2023.

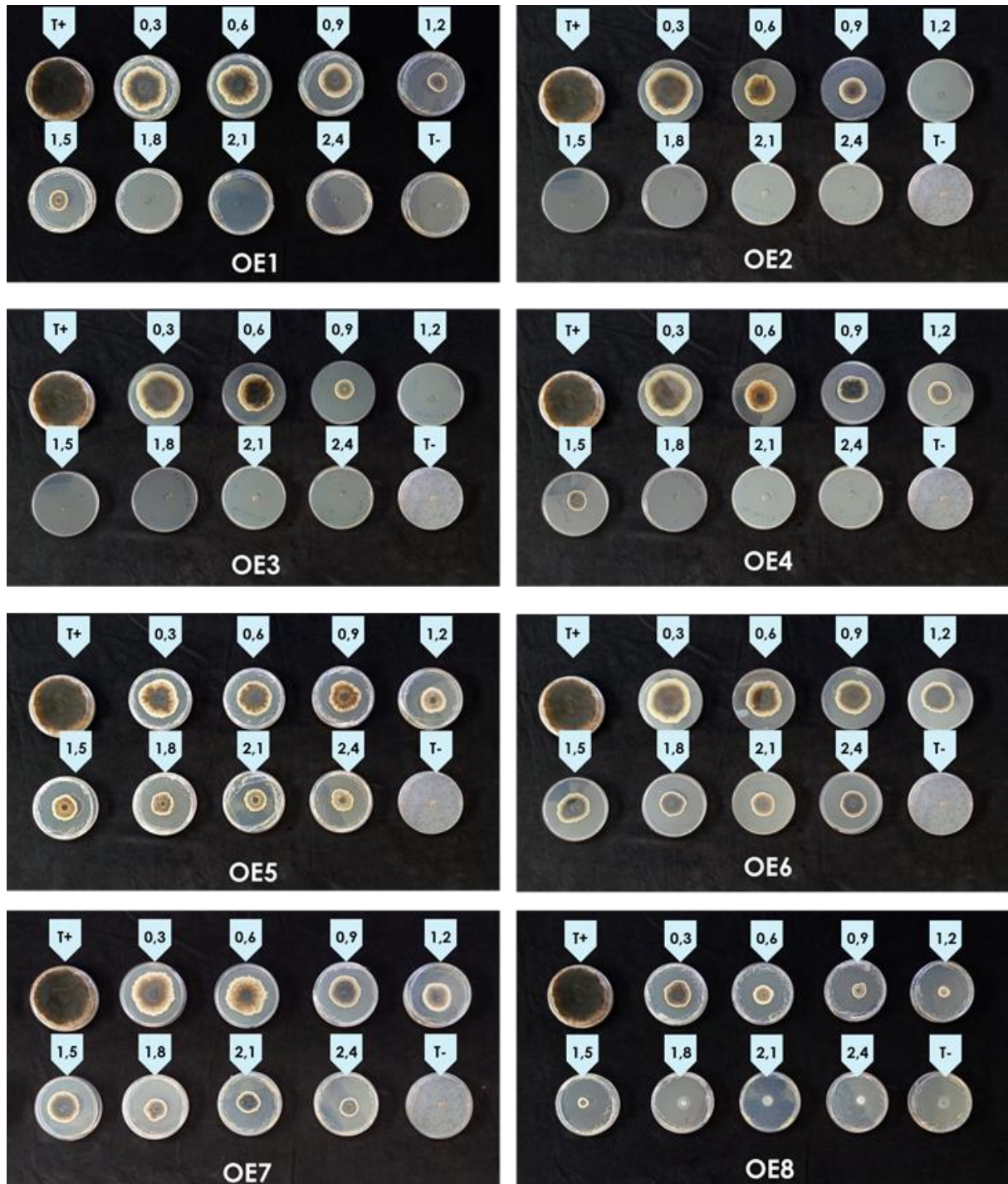


Fonte: Próprio autor (2023)

Na Figura 10, observa-se os resultados brutos obtidos *in vitro* do controle de *C. cassiicola* na utilização dos oito óleos essenciais. Conforme aumentou-se a dose ocorreu a inibição do crescimento micelial do patógeno. Em OE1, OE2, OE3, OE4, OE5 e OE8 foi possível observar o efeito de inibição total do crescimento nas doses 1,8; 1,2; 1,2; 1,8 e 1,8  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , respectivamente. Já os OE5, OE6 e OE7 não ocorreu a inibição total do crescimento em nenhuma das doses testadas.



Figura 10 – Efeito dos óleos essenciais no crescimento micelial de *C. cassicola*. Frederico Westphalen, 2023.



Fonte: Próprio autor (2023)

#### 4.2 EFEITO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS NA INIBIÇÃO DA SÍNTESE DO ERGOSTEROL

Os óleos essenciais testados na inibição da síntese do ergosterol demonstraram efeito conforme observado na Figura 10, onde comparado a dose com a testemunha, observa-se que o teor de ergosterol nas médias de absorvância na faixa de 282 nm, referente aos derivados do ergosterol, os óleos essenciais OE1, OE2, OE3, OE4, OE5 e OE8 demonstraram uma redução de 100% do conteúdo de ergosterol do isolado de *C. cassiicola* (Tabela 3).

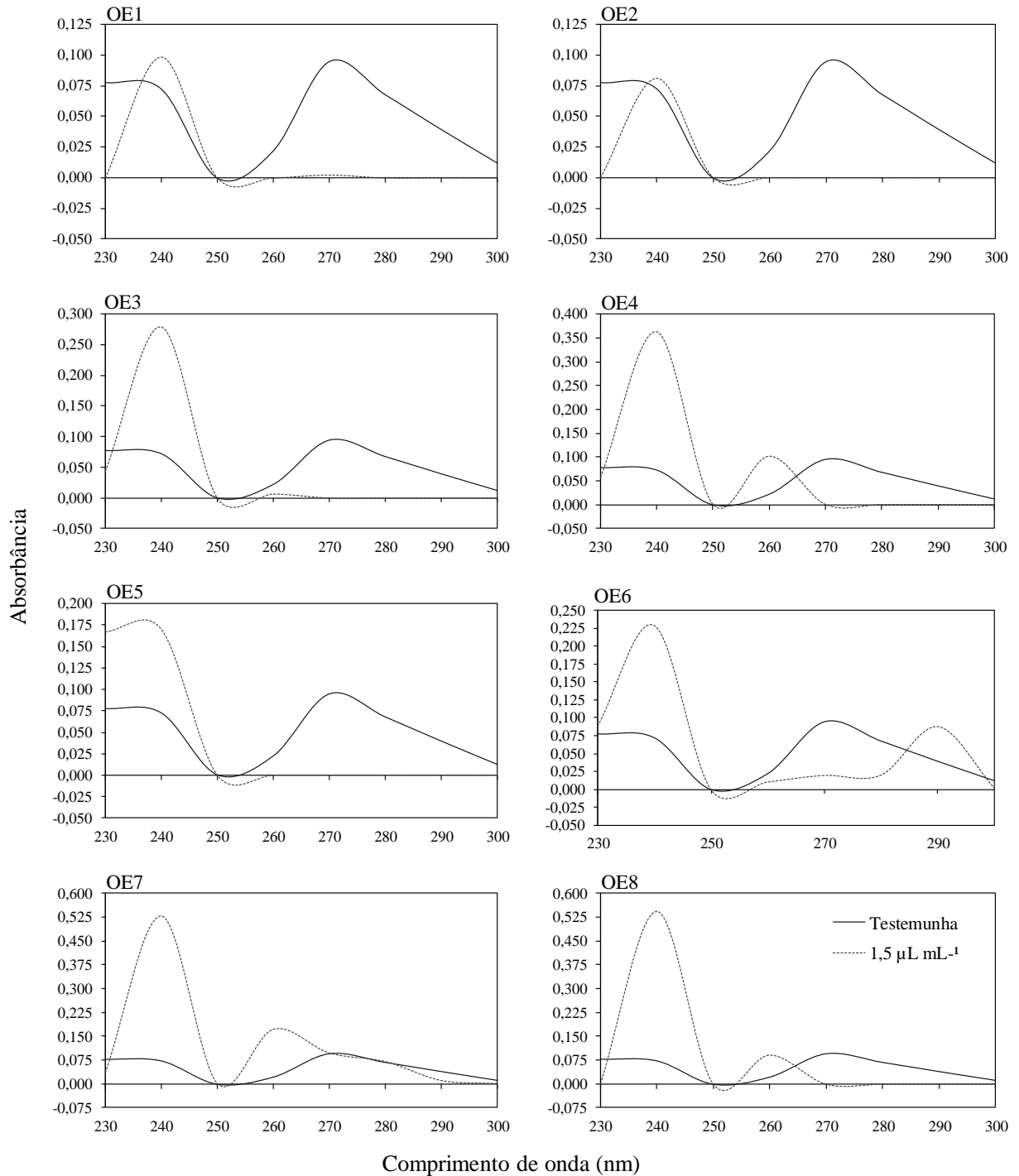
O óleo essencial OE6 observar-se que nas médias na faixa de 282 nm, na dose testada, resultou em uma redução de 28,5% no conteúdo de ergosterol comparado a testemunha. O óleo essencial OE7 não apresentou redução no teor de ergosterol de *C. cassiicola*, na dose de 1,5  $\mu\text{L mL}^{-1}$  (Figura 10).

Tabela 3 – Efeito dos óleos essenciais na inibição da síntese de ergosterol de *C. cassiicola*. Frederico Westphalen, 2023.

<b>Óleos essenciais</b>	<b>Inibição do Ergosterol</b>
OE1	100 %
OE2	100 %
OE3	100 %
OE4	100 %
OE5	100 %
OE6	71,5%
OE7	0,0%
OE8	100 %

Fonte: Próprio autor (2023)

Figura 11 – Perfil espectrofotométrico no UV do ergosterol extraído de *C. cassicola* sob tratamento de diferentes óleos essenciais, Frederico Westphalen 2023.



Fonte: Próprio autor (2023)

## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA *IN VITRO* DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Os resultados obtidos demonstraram que todos os óleos essenciais utilizados foram positivos na redução do crescimento micelial do isolado de *Corynespora cassicola* e ainda a maioria deles demonstrou ser fungicida ao patógeno, uma vez que em determinadas doses inibiram totalmente o seu crescimento. Confirmando o que Ootani et.al (2013) afirmam sobre o potencial fungicida dos óleos essenciais contra microrganismos.

Em relação a atividade dos óleos essenciais testados no presente trabalho, não foram encontrados na literatura relatos da interação em relação ao patógeno *C. cassicola*. Os óleos essenciais OE1, OE2 e OE3 apresentaram os melhores resultados no controle do isolado, com a mesma dose inibitória de 2,1  $\mu\text{L mL}^{-1}$ . O controle do crescimento micelial pode estar atrelado a composição dos óleos essenciais, tendo em vista que eles apresentam em sua constituição química alguns compostos, em comum, sendo que essa condição pode promover o controle da *C. cassicola*. Em trabalhos utilizando espécies com a composição química dos óleos similares aos aqui estudados, apresentaram da mesma forma a inibição do crescimento de outros fitopatógenos filamentosos como *Fusarium* sp., *Colletotrichum* sp., *Botrytis cinerea*, *Monilinia fructicola*, *Alternaria alternata*, *Bipolaris* sp., *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii* (FREDDO et al., 2016; FONTANA et al., 2021; GUIMARÃES et al., 2011; QUEIROZ et al., 2020).

O óleo essencial OE4 apresentou resultados satisfatórios no controle do isolado, com uma dose efetiva de controle de 2,2  $\mu\text{L mL}^{-1}$ . Na literatura trabalhos corroboram com o resultado aqui encontrado, pois em estudo de Silva et al. (2021) com a utilização do óleo com os mesmos majoritários verificaram no controle de *Fusarium* sp. e *Aspergillus* sp., demonstrando o mesmo potencial fungicida. Ramos et al. (2016) também observaram resultados satisfatórios no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* com concentrações similares a este trabalho. Esse óleo essencial apresenta componentes majoritários que tem demonstrado ação fungicida, bactericida e repelente (CASTRO et. al., 2007).

O óleo essencial OE5 demonstrou resultados promissores neste trabalho, da mesma forma apresentou relação direta de dose e inibição do crescimento, onde conforme se aumentou a dose houve um menor crescimento do isolado. Em trabalho, com a utilização de óleo essencial com os mesmos majoritários, observou-se atividade antifúngica em isolado de *Hemileia*

*vastatrix*, que conforme aumentou-se as doses houve a inibição do crescimento do patógeno e no presente estudo em doses elevadas ocorreu a inibição total do fungo (CAETANO et al., 2022).

No óleo essencial OE6 conforme aumentou-se a dose observou-se menor crescimento micelial dos micélios do isolado, demonstrando uma redução pouco significativa do seu crescimento. Este óleo essencial apresenta componentes que podem demonstrar efeitos antifúngicos isoladamente ou em interação com outros componentes. Resultados semelhantes foram encontrados por Rodrigues et al. (2006), na utilização de óleo essencial com os mesmos majoritários, observaram que em doses elevadas proporcionou um discreto crescimento de *Helminthosporium* sp., sinónimo utilizada antes de *Corynespora*. Em estudo Caetano et al. (2022) testando óleo essencial com os mesmos majoritários observaram que no controle de *H. vastatrix* a utilização de doses baixas não inibiu o crescimento do isolado e em doses elevadas ocorreu a total inibição de crescimento.

Para os óleos essenciais OE7 e OE8 foi possível observar que os resultados foram contrastantes apesar de serem plantas do mesmo gênero, onde que o OE8 foi capaz de reduzir o crescimento total do isolado e o OE7 demonstrou diminuir o crescimento conforme aumentou-se a dose, mas não impedindo o crescimento total do isolado. Isso se dá pela diferença dos componentes encontrados em cada espécie..

As plantas aromáticas utilizadas para a extração dos óleos essenciais possuem em sua composição álcoois, aldeídos, cetonas e terpenóides que dão o aroma e sabor característico, além de propriedades antimicrobianas, inseticidas e repelentes (GARCIA, 2009). Diversas são os modos de ações dos óleos essenciais, variando em diferentes casos, entre eles está a sua citotoxicidade relacionada pela sua característica lipofílica onde permite romper a parede celular e sua formação, desestabilidade citoplasmática e o impacto nas células com o escape de macromoléculas (HYLDGAARD; MYGIND; MEYER, 2012).

As propriedades lipofílicas presente nos óleos essenciais, permitem que entrem através da parede celular e com isso possa danificar a membrana plasmática dos fitopatógenos e romper várias camadas de ácidos graxos, polissacarídeos e fosfolipídios, além de aumentar sua permeabilidade (DWIVEDY et al., 2016), além de formar elementos hidrofóbicos que alteram a permeabilidade das membranas de cadeias como  $H^+$  e  $K^+$ , alterando sua protrusão, modificando o pH celular e afetando sua composição química (CABRAL; PINTO; PATRIARCA, 2013).

Os componentes presentes nos óleos essenciais também têm um papel importante que pode ter um modo de ação específico. Tariq et al. (2019) demonstraram que alguns componentes tem o potencial para a inibição da bomba de efluxo, assim como bloquear a formação de beta-glucanos alterando a biossíntese de esteróis, rompendo a integridade das paredes e membranas celulares de fungos.

Diversos estudos confirmam diferentes modos de ação dos óleos essenciais, Han et al. (2019) em trabalho com óleo essencial de crisântemo no controle de *Phytophthora nicotianae* perceberam que em maiores concentrações de sesquiterpenos e monoterpenos resultou no aumento da permeabilidade da membrana do micélio e o seu conteúdo de malondialdeído ocasionando a morte celular. Em estudo, Dwivedy et al. (2017) observaram que a utilização de óleo essencial de *Mentha cardíaca* no controle de *Aspergillus flavus* LHP-PV-1 em concentrações de 1,25 a 2,5  $\mu\text{L mL}^{-1}$  pode aumentar o vazamento de íons  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^{+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  das membranas celulares do patógeno. Em trabalho utilizando o citral no controle de *Penicillium italicum*, Tao, Ouyang e Jia (2014) observaram a eficácia do composto na inibição do crescimento micelial em doses de 0,5 e 1,0  $\mu\text{L mL}^{-1}$  e afim de verificar o seu mecanismo de ação, por meio de microscopia eletrônica de varredura, verificaram que as hifas expostas ao citral foram distorcidas e se colapsaram e com imagens de microscopia eletrônica de transmissão observaram a ruptura da membrana plasmática e a desorganização do citoplasma atribuindo sua atividade antifúngica pela ruptura da integridade da membrana celular e da permeabilidade da membrana.

Todos os óleos essenciais testados no experimento demonstraram resultados promissores, entretanto os óleos essenciais OE1, OE2, OE3, OE4 e OE8 devido a eficiência com baixa dosagem merecem o destaque e principalmente os OE2, OE3 e OE4, pois estes possuem características importantes como a facilidade no manejo do cultivo, capacidade de aclimatação e alto rendimento em produção de óleos essenciais.

## 5.2 EFEITO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS NA INIBIÇÃO DA SÍNTESE DO ERGOSTEROL

O resultado obtido das análises da inibição da síntese do ergosterol foi satisfatório e veio de encontro com os resultados obtidos *in vitro*, confirmando que alguns dos óleos essenciais estudados têm potencial fungicida no isolado de *Corynespora asiicola*. A importância da

análise desses efeitos em fitopatógenos é de suma importância para a compreensão do seu modo de ação e compreender esses mecanismos reflete em sua maneira de utilização na agricultura.

Da mesma forma como os testes *in vitro*, não foi encontrado nenhum relato dos óleos essenciais desse estudo na interação com o isolado de *C. cassicola* na inibição da síntese do ergosterol. Os óleos essenciais OE1, OE2, OE3, OE4, OE5 e OE8 apresentaram inibição da síntese de ergosterol do isolado, confirmando a sua fungitoxicidade frente ao patógeno.

Os óleos essenciais OE1, OE2 e OE3 apresentam alguns componentes em comum, e esse fato pode ser o responsável pelo desempenho satisfatório no controle do fitopatógeno. Esses componentes demonstraram importantes modos de ação em fitopatógenos, e em estudo foi analisado a inibição da síntese do ergosterol de Aflatoxina-B<sub>1</sub>, substância produzidas por fungos do gênero *Aspergillus*, observando que com o aumento da dose de óleos essenciais houve a redução no percentual de ergosterol em até 100% de inibição (PRASAD et al., 2022). Em outro trabalho Rezende et al. (2021) encontraram resultados semelhantes, onde a dose de 1,0  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , apresentou inibição total do ergosterol da membrana plasmática em isolados de *Aspergillus flavus* e *Aspergillus ochraceus*.

Ahmad et al. (2015) explicam que a possível inibição da síntese do ergosterol pelos constituintes dos óleos essenciais, pode estar relacionado a presença de composto do grupo de hidroxilas, que são responsáveis por causarem prejuízos na atividade do lanosterol-14- $\alpha$ -desmetilase, enzima a qual é responsável pela transformação do lanosterol em ergosterol na membrana plasmática.

O efeito do óleo essencial OE5 foi satisfatório na inibição da síntese de ergosterol do isolado, no presente estudo. O seu mecanismo de ação é elucidado na atuação de seus componentes que podem causar danos a integridade e a permeabilidade da membrana celular fúngica, além de provocar alterações morfológica nas células, desorganização do citoplasma e ruptura da membrana mitocondrial (RGUEZ et al., 2020).

Além dos óleos essenciais já citados, o OE8 também demonstrou resultados promissores na inibição da taxa de ergosterol do isolado e com importante papel de seus constituintes, na atividade antifúngica. Em estudo, Ahmad et al. (2011) testaram a atividade fungicida de compostos isolados em efeito no ergosterol e a integridade da membrana do fungo do gênero *Candida* e confirmaram que o composto lipofílico pode penetrar a célula da membrana e ter como alvo a via da síntese do ergosterol, prejudicando sua biossíntese.

O óleo essencial OE6 demonstrou redução no teor de ergosterol do isolado, isso pode ser explicado pela concentração de seus componentes e o seu modo de ação em fungos. Em

estudos onde avaliaram a integridade da membrana plasmática de *Penicillium digitatum* e o seu efeito no teor de ergosterol, OuYang et al. (2021) comprovaram a inibição da síntese de ergosterol em até 21,7% e complementam que pode ocorrer regulação negativa aos genes do ergosterol o qual é responsável pela conversão de lanosterol em ergosterol

O OE7 foi o único dos óleos essenciais avaliados no estudo, que nas doses testadas não demonstraram qualquer efeito sob a inibição da síntese de ergosterol do isolado de *C. cassicola*.

A ação fungicida dos óleos essenciais na membrana plasmática dos fungos tem uma grande importância. A membrana tem o papel de fornecer uma barreira física entre a célula e seu ambiente, e os esteróis presentes, como o ergosterol, são componentes fundamentais na membrana fúngica com a finalidade de regular a fluidez, a atividade de enzimas e mecanismos de transporte na membrana plasmática (MOORE; ROBSON; TRINCI, 2020).

A redução do ergosterol ocasionada pelos óleos essenciais testados no presente estudo é evidente e corrobora com resultados de trabalhos anteriores que demonstraram a sua eficiência (KELLY et al., 1995; AHMAD et al., 2011; TIAN et al., 2012; OUYANG et al., 2021; PRASAD et al., 2022).

O mecanismo de ação dos óleos essenciais na inibição da síntese de ergosterol tem algumas distinções, principalmente na ação de componentes majoritários, mas se assemelham de forma geral com atuação direta na integridade da membrana plasmática e nas rotas de biossíntese do ergosterol (RGUEZ et al., 2020; AHMAD et al., 2015)

Dentre os óleos essenciais testados na inibição da síntese do ergosterol os OE1, OE2, OE3, OE4, OE5 e OE8 demonstraram os melhores resultados comparado aos demais. OS resultados obtidos no experimento também corroboram para o experimento da avaliação antimicrobiana *in vitro*, onde os óleos OE1, OE2, OE3, OE4 e OE8 mantiveram com resultados promissores e confirmando a sua fungitoxicidade ao isolado.

Encontrar alternativas eficientes para o controle de *Corynespora cassicola* está se tornando cada dia mais importante devido ao aumento de isolados resistentes há ingredientes ativos de moléculas de fungicidas, consequência da mutação constante do microrganismo e sua grande quantidade de hospedeiros o que acaba dificultando o seu controle. Além de por muitos anos não ter dado tanta importância para a doença e focarem em doenças principais da cultura da soja, acabou indiretamente selecionando estes isolados com resistência a fungicidas. Assim, os óleos essenciais testados neste trabalho poderão contribuir para uma melhor compreensão em um manejo sustentável, pois a crescente utilização desses produtos tem se mostrado



eficiente na agricultura e novas técnicas para o seu uso evidencia a importância de seu estudo (SIL et al., 2020).

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os óleos essenciais testados na avaliação antimicrobiana *in vitro* demonstraram efeitos satisfatórios no controle de *Corynespora cassiicola* e podem ser alternativas viáveis para o seu controle. Os OE2 e OE3 foram os que obtiveram a menor dose inibitória de 1,2  $\mu\text{L mL}^{-1}$ .

Os óleos essenciais avaliados na inibição da síntese do ergosterol, apenas o óleo OE7 não demonstrou efeito no teor de ergosterol, mas todos os outros óleos essenciais demonstraram efeito na taxa de ergosterol, corroborando com os resultados obtidos na avaliação *in vitro*.

Os dados do presente trabalho podem auxiliar na escolha de óleos essenciais com potencial de uso como fungicida e com isso, realizar estudos mais aprofundados sobre o seu modo de ação sobre o patógeno e com a possibilidade da formulação de produtos que possam ser utilizados em uma escala comercial.

## REFERÊNCIAS

- AHMAD, A. et al. Fungicidal activity of thymol and carvacrol by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity against *Candida*. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases**, v. 30, n. 1, p. 41-50, 2011.  
<https://doi.org/10.1007/s10096-010-1050-8>
- AHMAD, A. et al. Synergistic interactions of eugenol-tosylate and its congeners with fluconazole against *Candida albicans*. **Plos one**, v. 10, n. 12, p. e0145053, 2015.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145053>
- ALMEIDA, AMR.; YAMASHITA, J. Crescimento e esporulação de *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt.) Wei em diferentes meios de cultura. **Fitopatologia brasileira**, v. 1, n. 3, 1976.
- AMORIM, L.; PASCHOLATI, S. Ciclo de relações patógeno-hospedeiro. *In*: **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos** v. 1, 2019. p. 45-70. ISBN 978-85-318-0056-6.
- AMORIM, L.; PASCHOLATI, S. Controles cultural e físico de doenças de plantas. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**, v. 1, 2019.
- ATAN, S.; HAMID, NH. Differentiating races of *Corynespora cassiicola* using RAPD and internal transcribed spacer markers. 2003.
- AUMENTADO, HD.; BALENDRES, MA. Characterization of *Corynespora cassiicola* causing leaf spot and fruit rot in eggplant (*Solanum melongena* L.). **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 55, n. 11, p. 1304-1316, 2022.  
<https://doi.org/10.1080/03235408.2022.2091211>
- BALBI-PEÑA, MI. et al. Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e *Curcumina* – II. Avaliação *in vivo*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 4, p. 401-404, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582006000300012>
- BARTHE, P. et al. Structural analysis of cassiicolin, a host-selective protein toxin from *Corynespora cassiicola*. **Journal of molecular biology**, v. 367, n. 1, p. 89-101, 2007.
- BERGAMIM FILHO, A.; AMORIM, L. Princípios gerais de controle. *In*: AMORIM, Lilian et al. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos** v. 1, 2019. p. 215-228. ISBN 978-85-318-0056-6.
- BIZZO, HR.; HOVELL, AMC.; REZENDE, CM. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química nova**, v. 32, p. 588-594, 2009.
- BLAZQUEZ CH., 1967. *Corynespora* leaf spot of cucumber. Proceed-ings of the Florida State Horticultural Society 80, 177–182.
- BONATO, ER.; BONATO, ALV. A soja no Brasil: história e estatística. 1987.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira, volume 2**. Brasília, 2010. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas>. Acessado em: 30 ago. 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Brasília, 2022. Disponível em: [http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em: 30 ago. 2022.

BRETON, F. et al. Role of cassiicolin, a host-selective toxin, in pathogenicity of *Corynespora cassiicola*, causal agent of a leaf fall disease of Hevea. **Journal of Rubber Research**, v. 3, n. 2, p. 115-128, 2000.

CABRAL, L.; PINTO, VF.; PATRIARCA, A. Application of plant derived compounds to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods. **International journal of food microbiology**, v. 166, n. 1, p. 1-14, 2013.

CAETANO, ARS. et al. Antifungal activity of poly ( $\epsilon$ -caprolactone) nanoparticles incorporated with *Eucalyptus* essential oils against *Hemileia vastatrix*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 75, n. 4, p. 1028-1041, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/lam.13782>. Acessado em: 09 jan. 2023.

CARDOSO, RS. et al. Mancha-alvo em cultivares de soja no município de Paragominas, PA. In: **Embrapa Amazônia Oriental-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, 23., 2019, Belém, PA. Anais. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2019., 2019.

CARRÃO-PANIZZI, MC. et al. Teor de óleo e proteína em genótipos de soja semeados em diferentes épocas no Rio Grande do Sul. 2022. CIRCULAR TÉCNICA 70 EMBRAPA

CASTRO, HG et al. Crescimento, teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 4, p. 55-61, 2007.

CELOTO, MIB. et al. Efeitos da temperatura e regime de luz sobre *Corynespora cassiicola* e da temperatura e período de molhamento foliar no desenvolvimento da mancha-alvo em acerola. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 82, p. 1-7, 2016.

DIAS, IJ. et al. Antifungal activity of linalool in cases of *Candida* spp. isolated from individuals with oral candidiasis. **Brazilian Journal of Biology**, v. 78, p. 368-374, 2017.

DIXON, LJ. et al. 2009. Host specialization and phylogenetic diversity of *Corynespora cassiicola*. *Phytopathology* 99:1015-1027.

DWIVEDY, AK. et al. Chemically characterized *Mentha cardiaca* L. essential oil as plant based preservative in view of efficacy against biodeteriorating fungi of dry fruits, aflatoxin secretion, lipid peroxidation and safety profile assessment. **Food and chemical toxicology**, v. 106, p. 175-184, 2017.

DWIVEDY, AK. et al. Plant essential oils against food borne fungi and mycotoxins. **Current opinion in food science**, v. 11, p. 16-21, 2016.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária, Embrapa Soja. **Tecnologias de Produção de Soja** - Região Central do Brasil. Londrina, 2013.

FAJOLA, AO.; ALASOADURA, SO. 1973. *Corynespora* leaf spot, a new disease of tobacco (*Nicotiana glauca*). **Plant Disease Reporter** 57, 375-378.

FARR, DF.; ROSSMAN, AY. Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. Disponível em: <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/> Acesso em: 12 jan. 2023.

FERNANDO, THPS. et al. 2010. Screening of fungicides against *Corynespora* leaf fall disease of rubber under nursery conditions. **Journal of Plant Diseases and Protection**, 117(3), 117–121. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/43229109>. Acesso em: 20 dez. 2022.

FERREIRA, EB.; CAVALCANTI PP., NOGUEIRA DA. ExpDes: Experimental designs. 2021. Disponível em: <https://cran.r-project.org/package=ExpDes>. Acesso em: 28 dez. 2022.

FONTANA, DC. et al. Using essential oils to control diseases in strawberries and peaches. **International Journal of Food Microbiology**, v. 338, p. 108980, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108980>. Acesso em: 05 jan. 2023

FRAC, Fungicide Resistance Action Committee. **Code List ©\*2021**: Fungal control agents sorted by cross resistance pattern and mode of action. Disponível em: <https://www.frac.info/>. Acesso em: 30 ago. 2022.

FRAC, Fungicide Resistance Action Committee. **Pathogen Risk List**, 2019. Disponível em: <https://www.frac.info/>. Acesso em: 30 ago. 2022.

FREDDO, AR. et al. Potencial do óleo essencial de erva-lúisa (*Aloysia citriodora* Palau) no controle de *Fusarium* sp. in vitro. **Revista Brasileira de Plantas Medicináveis**, v. 18, p. 558-562, 2016. Disponível em: [https://doi.org/10.1590/1983-084X/15\\_223](https://doi.org/10.1590/1983-084X/15_223). Acesso em: 05 jan. 2023.

FULMER, AM. et al. First report of target spot caused by *Corynespora cassiicola* on cotton in Georgia. **Plant disease**, v. 96, n. 7, p. 1066-1066, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-12-0035-PDN>. Acesso em: 05 jan. 2023.

GARCÍA, AÁ.; CARRIL, EPU. Metabolismo secundario de plantas. **Reduca (biología)**, v. 2, n. 3, 2011. Disponível em: <http://www.revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/798>. Acesso em: 05 jan. 2023.

GAZZONI, DL. A soja no Brasil é movida por inovações tecnológicas. **Ciência e Cultura**, v. 70, n. 3, p. 16-18, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21800/2317-66602018000300005>. Acesso em: 05 jan. 2023.

GODOY, CV. et al. Doenças da Soja. In: AMORIM, Lilian et al. **Manual de fitopatologia: Doenças de plantas cultivadas** v. 2, 2016. p. 647-675. ISBN 978-85-318-0053-5.

GOULART, ACP.; LAMAS, FM. Occurrence of Target Spot, caused by *Corynespora cassiicola*, on cotton plants in Dourados, Mato Grosso do Sul State. **Summa Phytopathologica**, v. 42, p. 271-272, 2016.

GUIMARÃES, LGL. et al. Antioxidant and fungitoxic activities of the lemongrass essential oil and citral. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 464, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1806-66902011000200028>. Acesso em: 05 jan. 2023.

HABER, LL.; CLEMENTE, FMVT. Plantas aromáticas e condimentares: uso aplicado na horticultura. **Brasília: EMBRAPA**, 2013.

HAN, XB. et al. Essential oil of *Chrysanthemum indicum* L.: potential biocontrol agent against plant pathogen *Phytophthora nicotianae*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 7, p. 7013-7023, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04152-y>. Acesso em: 06 jan. 2023.

HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; MEYER, RL. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers in microbiology**, v. 3, p. 12, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00012>. Acesso em: 05 jan. 2023.

JAYASINGHE, CK. et al. A decade of experience with *Corynespora* leaf fall disease in Sri Lanka. **International Rubber Research and Development Board**. 1997.

JUHÁSZ, ACP. et al. Desafios fitossanitários para a produção de soja. 2013. **Informe agropecuário**. Belo Horizonte, v. 34, n. 276. p. 66-75. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/978383>. Acesso em: 05 dez. 2022.

KEDIA, A. et al. Antifungal, antiaflatoxigenic, and insecticidal efficacy of spearmint (*Mentha spicata* L.) essential oil. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 89, p. 29-36, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.10.027>. Acesso em: 09 jan. 2023.

KELLY, SL. et al. Mode of action and resistance to azole antifungals associated with the formation of 14 $\alpha$ -methylergosta-8, 24 (28)-dien-3 $\beta$ , 6 $\alpha$ -diol. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 207, n. 3, p. 910-915, 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.1272>. Acesso em: 09 jan. 2022.

LUTTRELL, ES. Parasitism of fungi on vascular plants. **Mycologia**, v. 66, n. 1, p. 1-15, 1974.

MATSUO, É.; FERREIRA, SC.; SEDIYAMA, T. Botânica e fenologia. In: BOREM, A. et al. **Soja do plantio à colheita**, 2022. Editora UFV. Viçosa. p. 23–40. ISBN: 978-65-862-3553-1

MEENA, RP. et al. First report of yellow leaf spot caused by *Corynespora cassiicola* on giloy in India. **Journal of Plant Pathology**, v. 104, n. 1, p. 409-409, 2022.

MELO, MM.; REIS, EM. Patogenicidade de *Corynespora cassiicola* em soja, limiares térmicos e temperatura ótima para a germinação de conídios em meio de cultura. **Summa Phytopathologica**, v. 36, p. 254-256, 2010.

MESQUINI, R. 2012. Componentes monocíclicos e quantificação de danos no patossistema *Corynespora cassiicola* - soja. **Dissertação de mestrado**. USP - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, Brasil.

MOLINA, JP. et al. Soybean target spot caused by *Corynespora cassiicola*: a resurgent disease in the Americas. **Tropical Plant Pathology**, p. 1-17, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40858-022-00495-z>. Acesso em: 2022

MOLINA, JP. et al. Meta-analysis of fungicide efficacy on soybean target spot and cost–benefit assessment. **Plant Pathology**, v. 68, n. 1, p. 94-106, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ppa.12925>. Acesso em: 04 jan. 2023.

MOO-KOH, FA. et al. Activity of Aqueous Extracts from Native Plants of the Yucatan Peninsula against Fungal Pathogens of Tomato In Vitro and from *Croton chichenensis* against *Corynespora cassiicola* on Tomato. **Plants**, v. 11, n. 21, p. 2821, 2022.

MOORE, D.; ROBSON, GD.; TRINCI, APJ. **21st century guidebook to fungi**. Cambridge University Press, 2020. Disponível em: [http://www.davidmoore.org.uk/21st\\_century\\_guidebook\\_to\\_fungi\\_platinum/Ch05\\_14.htm#:~:text=The%20prime%20function%20of%20the,is%20not%20a%20static%20barrier](http://www.davidmoore.org.uk/21st_century_guidebook_to_fungi_platinum/Ch05_14.htm#:~:text=The%20prime%20function%20of%20the,is%20not%20a%20static%20barrier). Acesso em: 10 jan. 2023.

OLIVEIRA, JA. Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L.) e pimentão (*Capsicum annuum* L.). 1991. 111 f. **Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)** - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 1991.

OLIVEIRA, RR. et al. Chlamydospore formation by *Corynespora cassiicola*. **Tropical Plant Pathology**, v. 37, p. 415-418, 2012.

ONESIROSAN, PT. et al. Host specificity of Nigerian and North American isolates of *Corynespora cassiicola*. **Phytopathology**, v. 64, n. 10, p. 1364-1367, 1974.

ONOFRE, RB. et al. First report of target spot caused by *Corynespora cassiicola* on blueberry in North America. **Plant Disease**, v. 100, n. 2, p. 528, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-15-0316-PDN>. Acesso em: 15 dez. 2022.

OOTANI, MA. et al. Use of essential oils in agriculture. **Journal of biotechnology and biodiversity**, v. 4, n. 2, p. 162-174, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v4n2.ootani>. Acesso em: 05 jan. 2023.

OUYANG, Q. et al. Citronellal exerts its antifungal activity by targeting ergosterol biosynthesis in *Penicillium digitatum*. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 6, p. 432, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof7060432>. Acesso em: 09 jan. 2023.

PARBERY, DG. Trophism and the ecology of fungi associated with plants. **Biological Reviews**, v. 71, n. 3, p. 473-527, 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1996.tb01282.x>. Acesso em: 06 jan. 2023

PINHEIRO, CG. et al. A method for evaluating ergosterol content in wood-decay fungi. **Revista Árvore**, v. 44, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1806-908820200000010>. Acesso em: 06 jan. 2023.

PRASAD, J. et al. Synthesis, characterization and in situ bioefficacy evaluation of *Cymbopogon nardus* essential oil impregnated chitosan nanoemulsion against fungal infestation and aflatoxin B1 contamination in food system. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 205, p. 240-252, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.02.060>. Acesso em: 06 jan. 2023.

QUEIROZ, TN., et al. Extratos e óleos essenciais como alternativa no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii* isolados de soja (*Glycine max* L.). **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 13, n. 2, p. 737-753, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.17765/2176-9168.2020v13n2p737-753>. Acesso em: 05 jan. 2023.

RAMOS, K.; ANDREANI JUNIOR, R.; KOZUSNY-ANDREANI, DI. Óleos essenciais e vegetais no controle in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, p. 605-612, 2016. Disponível em: [https://doi.org/10.1590/1983-084X/15\\_192](https://doi.org/10.1590/1983-084X/15_192). Acesso em: 05 jan. 2023.

RGUEZ, S. et al. Tetracelinis articulata essential oil reduces *Botrytis cinerea* infections on tomato. **Scientia Horticulturae**, v. 266, p. 109291, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109291>. Acesso em: 04 jan. 2023.

RODRIGUES, E. et al. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de gengibre e eucalipto *in vitro* e em fibras de bananeira infectadas com *Helminthosporium* sp. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 28, n. 1, p. 1-5, 2006. Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=303026568006>. Acesso em: 04 jan. 2023.

ROMERO, AL. et al. Efeito de monoterpenos naturais no crescimento micelial e germinação de conídios de *Corynespora cassiicola*. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 18, n. 1, p. 3-7, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.12661/pap.2013.002>. Acesso em: 09 jan. 2023.

ROMRUENSUKHAROM, P. et al. Genetic variability of *Corynespora cassiicola* populations in Thailand. **Journal of Rubber Research**, v. 8, n. 1, p. 38-49, 2005. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20063162211>. Acesso em: 20 dez. 2022.

RUPE, J.; SCONYERS L. Soybean rust. **The Plant Health Instructor**. 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1094/PHI-I-2008-0401-01>. Acesso em: 20 dez. 2022.

SANTOS, AS. Óleos essenciais: Uma abordagem econômica e industrial. **Sindicato Nacional dos Editores do Rio de Janeiro, RJ**, 2011.

SCHLUB, RL. et al. An overview of target spot of tomato caused by *Corynespora cassiicola*. In: **II International Symposium on Tomato Diseases 808**. 2007. p. 25-28. Disponível em: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.808.1>. Acesso em: 25 dez. 2022.



SEIXAS, CDS. et al. Tecnologias de Produção de Soja. **Embrapa Soja-Sistema de Produção (INFOTECA-E)**, 2020. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1123928/tecnologias-de-producao-de-soja>. Acesso em: 20 dez. 2022.

SERAFINI, LA. et al. Extrações e aplicações de óleos essenciais de plantas aromáticas e medicinais. **Caxias do Sul: Educs**, 2002.

SIL, A. et al. Essential oils: A boon towards eco-friendly management of phytopathogenic fungi. **J. Entomol. Zool. Stud**, v. 8, p. 1884-1891, 2020. Disponível em: <https://www.entomoljournal.com/archives/2020/vol8issue4/PartAD/8-4-278-856.pdf>. Acesso em: 01 jan. 2023

SILVA, ACP. et al. Propriedade antifúngica de óleos essenciais e extratos vegetais sobre *Fusarium* sp e *Aspergillus* sp isolados de feijão. **Holos**, v. 7, p. 1-15, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.15628/holos.2020.6889>. Acesso em: 01 jan. 2023.

SILVA, BV. et al. Efeito dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial *in vitro* de *Colletotrichum* spp. **Cadernos de Agroecologia**. v. 13, n. 2, p.1-9, 2018. Disponível em: <http://cadernos.aba-agroecologia.org.br/cadernos/article/view/2068>. Acesso em: 04 jan. 2023.

SOARES, RM.; ARIAS, CAA. Herança de resistência da soja para *Corynespora cassiicola*. **Summa Phytopathologica**, v. 46, p. 85-91, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0100-5405/232903>. Acesso em: 02 jan. 2023.

SOUSA, FMG.; BENTES, JLS. Variabilidade de isolados de *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt.) Wei procedentes do Amazonas, em meios de cultura. **Summa Phytopathologica**, v. 40, p. 84-87, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-54052014000100014>. Acesso em: 02 jan. 2023.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.

TAO, N.; OUYANG, Q.; JIA, L.. Citral inhibits mycelial growth of *Penicillium italicum* by a membrane damage mechanism. **Food Control**, v. 41, p. 116-121, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.01.010>. Acesso em: 02 jan. 2023.

TARIQ, S. et al. A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. **Microbial pathogenesis**, v. 134, p. 103580, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103580>. Acesso em: 03 jan. 2023.

TEAM, R. Core. 2019. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 28 dez. 2022.

TERAMOTO, A.; PARISI, M.; CUNHA, MG. Caracterização fisiológica de isolados de *Corynespora cassiicola*. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, p. 313-322, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1982-56762013005000012>. Acesso em: 02 jan. 2023.

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, n. 3, p. 520-527, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.061>. Acesso em: 09 jan. 2023.

TISSERAND, R. A arte da aromaterapia. São Paulo: **Roca**, 1993.

VILELA, GR. et al. Activity of essential oil its major compounds 1,8 - cineole from *Eucalyptus globules*, against the storage fungi *Aspergillus avus* and *Aspergillus parasiticus*. **Journal of Stored Products Research**, v.45, p.108-111, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2008.10.006>. Acesso em: 03 jan. 2023.

XAVIER, SA. et al. Sensitivity of *Corynespora cassiicola* from soybean to carbendazim and prothioconazole. **Tropical plant pathology**, v. 38, p. 431-435, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1982-56762013005000020>. Acesso em: 25 dez. 2022.

XU, J. et al. First report of *Corynespora* leaf spot on sweet potato caused by *Corynespora cassiicola* in China. **Plant Disease**, v. 100, n. 10, p. 2163-2163, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-16-0238-PDN>. Acesso em: 25 dez. 2022.