

Artigo Científico

## Atividade antifúngica de negramina, eucalipto e pinhão manso sobre os fitopatógenos

### Resumo

Objetivou-se avaliar as propriedades antifúngicas de três espécies vegetais: *Eucalyptus globulus*, *Siparuna guianensis* e *Jatropha curcas*, contra os fitopatógenos *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. Foram testados 5 concentrações ( $0 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $0,5 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $1 \mu\text{L mL}^{-1}$  e  $1,5 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $2,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) em 4 períodos (24, 48, 72, 96 horas) do óleo bruto de pinhão - manso, negramina e eucalipto. Os óleos foram inseridos em meio BDA acrescido de 1% de tween 80. Discos de 5.0 mm de diâmetro contendo micélio do patógeno foram transferidos para o centro de cada placa que foram incubadas por 4 dias e a cada 24 horas o crescimento micelial do patógeno foi avaliado. O óleo essencial de Eucalipto inibiu totalmente o crescimento micelial de *R. solani* nas doses de  $1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $1,5 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $2,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  em todos os períodos de avaliações de *S.rolfsii* períodos de 24 h, 72 h e 48h, com exceção da dose de  $2,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  que inibiu o crescimento micelial em todos os tempos. O óleo de Negramina nas concentrações de  $1,5 \mu\text{L mL}^{-1}$  e  $2,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  reduziram o crescimento dos fungos *R. solani* e *S. rolfsii*. As associações 1 e 2 nas concentrações  $1,5 \mu\text{L mL}^{-1}$  e  $2 \mu\text{L mL}^{-1}$  inibiram totalmente o crescimento micelial dos fitopatógenos. O óleo Pinhão manso não apresentou atividade antifúngica.

**Palavras-chave:** fungitoxidade, controle alternativo, crescimento micelial.

### Antifungal activity of plant species Negramine, Eucalyptus and Jatropha on plant pathogens

#### Abstract

The objective is to evaluate the antifungal properties of three plant species: *Eucalyptus globulus*, *Siparuna guianensis* and *Jatropha curcas*, against plant pathogens *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*. Five concentrations ( $0,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $0,5 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $1,5 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $2,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) were tested in 4 periods (24, 48, 72, 96 hours) of crude oil of Jatropha - Jatropha, negramine and eucalyptus. The oils were placed on PDA plus 1% Tween 80. Disks 5,0 mm in diameter containing mycelium were transferred to the center of each plate were incubated for 4 days and every 24 hours mycelial growth of the pathogen was evaluated. The experimental design was completely randomized factorial 6 (doses) x 4 (time) with 3 replications. The essential oil of *Eucalyptus globulus* completely inhibited the mycelial growth of *R. solani* in doses of  $1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $1,5 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $2,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  in all periods of reviews *S.rolfsii* periods of 24 h, 48 and 72 h, with except for the dose of  $2,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  that inhibited mycelial growth at all times. The oil *Siparuna guianensis* has the marjoritario as myrcene (74.93%) component, and at  $1 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $1,5 \mu\text{L mL}^{-1}$ , and  $2,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  reduced the fungal growth *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. Associations 1 and 2 at concentrations  $1,5 \mu\text{L mL}^{-1}$  and  $2,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  completely inhibited the mycelial growth of pathogens. The oil from *Jatropha curcas* antifungal showed no activity.

**Keywords:** fungitoxic, alternative control, mycelial growth.

Received at: 12/08/2018

Accepted for publication at: 28/01/2019

1 - Universidade Federal de Goiás/ Doutorado. Email: evilannalima@msn.com

2 - Pesquisadora PNPd no programa de pós doutorado de Produção Vegetal na área de Fitotecnia, Universidade Federal do Tocantins. Email: mariliabarcelosagro@hotmail.com

3 - Professor associado da Fundação Universidade Federal do Tocantins (UFT), Campus de Gurupi. Email: chagasjraf@uft.edu.br

4 - Professor Adjunto IV da Fundação Universidade Federal do Tocantins e Bolsista de Produtividade em Pesquisa CNPq. Email: fidelisrr@uft.edu.br

5 - Professor Adjunto da Fundação Universidade Federal do Tocantins - UFT. Email: santosmm@uft.edu.br

## Actividad antifúngica de negramin, eucalipto y *Jatropha curcas* en fitopatógenos

### Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar las propiedades antifúngicas de tres especies de plantas: *Eucalyptus globulus*, *Siparuna guianensis* y *Jatropha curcas* contra los fitopatógenos *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii*. Se probaron cinco concentraciones ( $0 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $0,5 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $1 \mu\text{L mL}^{-1}$  y  $1,5 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $2,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) durante 4 periodos (24, 48, 72, 96 horas) del aceite crudo de jatropha, negramina y eucalipto. Se insertaron los aceites en medio BDA con acrésimo de 1% de tween 80. Se transfirieron discos de 5,0 mm de diámetro con micélio del patógeno al centro de cada placa que fueran incubados durante 4 días y cada 24 horas el crecimiento del micelio del patógeno fue evaluado. clasificado. El aceite esencial de eucalipto inhibió totalmente el crecimiento micelial de *R. solani* a dosis de  $1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $1,5 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $2,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  en todos los periodos de evaluación de *S. rolfsii*. periodos de 24, 72 y 48 h, excepto la dosis de  $2,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  que inhibió el crecimiento del micelio en todo momento. El aceite de negramina a concentraciones de  $1,5 \mu\text{L mL}^{-1}$  y  $2,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  redujo el crecimiento de hongos *R. solani* y *S. rolfsii*. Las combinaciones 1 y 2 em las concentraciones de  $1,5 \mu\text{L mL}^{-1}$  y  $2 \mu\text{L mL}^{-1}$  inhibieron totalmente el crecimiento micelial de los fitopatógenos. El aceite de jatropha no mostró actividad antifungica.

**Palabras clave:** fungitoxicidad, control alternativo, crecimiento micelial.

### Introdução

O uso abusivo de produtos químicos no controle de fitopatógenos vem provocando graves consequências ambientais. Esse consumo é efeito da busca por benefícios imediatos encontrados na aplicação de defensivos químicos como aumento da lucratividade e a rápida paralisação ou eliminação dos sintomas da doença. Uma importante fonte de defensivos agrícolas no combate a doenças de plantas são os produtos naturais de origem vegetal e seus análogos (SILVA e BASTOS, 2007). Assim, diversos óleos têm sido largamente investigados contra fitopatógenos de diversas culturas como, por exemplo, de mamão, maracujá e cacau (CARNELOSSI et al., 2009).

O metabolismo das plantas pode ser dividido em metabolismo primário e secundário. O primário sempre foi considerado essencial a todas as espécies, e é responsável pelo desenvolvimento e manutenção celular, participando desse processo substâncias como carboidratos, lipídeos, proteínas, clorofila e ácidos nucleicos (ANDRADE et al., 2014).

Nas últimas décadas, com o esclarecimento das centenas de componentes dos óleos essenciais, foi possível compreender a complexidade e a enorme diversidade que existe neste grupo de produtos naturais (FRANZ, 2010). A variabilidade das quantidades e dos perfis dos componentes de óleos

essenciais aponta que a sua atividade antimicrobiana não se atribua a um único mecanismo, mas sim, a diversos locais de ação a nível celular.

Estudos que investigam a atividade de óleos essenciais, ou compostos derivados do metabolismo primário de planta como óleos extraídos de sementes, tem ganhado força em pesquisas que busca controle de agentes causadores de doenças em vegetais que, muitas vezes, levam a significativas perdas de produção, contaminação de grãos durante a estocagem, diminuição dos valores nutritivos além da produção de micotoxinas prejudiciais ao homem e aos animais (SANTOS et al., 2010). A ação antimicrobiana de óleos essenciais em diversas pesquisas como a de Silva e Bastos (2007) que avaliaram a atividade fungitóxica de espécies de *Piper* spp. em *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*, mostram resultados significativos de algumas espécies contra esses fitopatógenos contribuindo na busca de defensivos agrícolas. Além disso, a exportação de essências de interesse industrial estimula o cultivo de culturas produtoras desses compostos.

Os métodos preliminares para avaliação de interações de substâncias foram desenvolvidos para a detecção de sinergismo de drogas, portanto, não há método padronizado desenvolvido para avaliar a interação entre óleos essenciais ou seus componentes.

Entende-se por sinergismo quando a ação

de uma droga é facilitada ou aumentada por outra, ocorrendo sinergismo aditivo quando o efeitos das duas drogas se somam e sinergismo potenciador quando o efeito da associação é maior do que os efeitos individuais dos componentes ou da soma dos mesmos. Já o efeito antagonístico caracteriza-se pela inibição ou redução de uma droga por outra (SILVA, 2010). A ausência de interações é definida como indiferença (BASSOLÉ e JULIANI, 2012).

Na busca do controle alternativo de microrganismos causadores de doenças em culturas importantes, objetivou-se com esse trabalho avaliar as propriedades antifúngicas de três óleos: *Eucalyptus globulus*, *Siparuna guianensis* e *Jatropha curcas*, contra os fitopatógenos *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii* encontrando a concentração ideal para inibição do crescimento micelial desses fungos e investigar possíveis efeitos sinérgicos na combinação desses óleos testados em diferentes concentrações.

## Materiais e métodos

A extração do óleo essencial de *Siparuna guianensis* e *Jatropha curcas* foram conduzidas no laboratório de Malerbiologia da Universidade Federal do Tocantins (UFT), Campus de Gurupi. Os ensaio de inibição de crescimento micelial dos experimentos foram realizados no Laboratório de Microbiologia da UFT, Campus de Gurupi.

As folhas de *Siparuna guianensis* foram obtidas na Fazenda Floresta, coordenadas geográficas 10°37'10''S e 49°27'59''O e altitude de 290, e armazenadas no laboratório de Malerbiologia da UFT. A obtenção do óleo de *Siparuna guianensis*, foi feita por meio de hidrodestilação por arraste a vapor pelo método de Clevenger. O óleo extraído foi conservado em ampolas de vidro âmbar a temperatura de 4 °C.

As sementes de *Jatropha curcas* L. foram obtidas na UFT pelo laboratório de Malerbiologia. O óleo foi extraído, pela técnica extração contínua via extrator de soxhlet, das sementes trituradas de pinhão- manso, utilizando como solvente hexano e álcool na proporção de 1:8 em um tempo de extração de três horas. Após a destilação o produto foi levado a um evaporador rotativo para retirada dos solventes e óleo obtido armazenado em frasco âmbar a 4 °C. (Pereira et al., 2016).

O óleo essencial de Eucalipto (*Eucalyptus globulus*), extraído por arraste a vapor foi fornecido pela empresa JUMP Florestal localizada no município de Dueré-TO.

A amostra dos patógenos *Rhizoctonia solani*

e *Sclerotium rolfsii* foram obtidas do laboratório de Fitopatologia da UFT. Foi realizada a análise cromatográfica apenas do óleo essencial de *Siparuna guianensis*.

A análise por CG-EM foi realizada em um instrumento Shimadzu QP-2010 (Kioto, Japão), com impacto de elétrons a 70 eV, coluna DB-5MS metilpolissiloxano (30 m x 0,25 mm x 1,0 µm; J&W Scientific Inc., Folsom, EUA), modo de injeção com divisão de fluxo 1:50, durante toda a corrida (60,3 min), gás carreador hélio com fluxo 1,50 mL.min<sup>-1</sup> (53,5 Kpa) e velocidade linear constante de 42 cm.s<sup>-1</sup>, temperatura do injetor 250°C, temperatura da linha de transferência 260°C. Programação do forno cromatográfico: temperatura inicial de 70°C com rampa de aquecimento de 4°C min<sup>-1</sup> até 180°C por 27,5 min, seguida por rampa de aquecimento de 25°C min<sup>-1</sup> até 250°C, nesta temperatura por 30 min. A identificação dos compostos foi realizada pela análise dos padrões de fragmentação exibidos nos espectros de massas com aqueles presentes na base de dados fornecida pelo equipamento (NIST - 147.198 compostos), bem como através da comparação dos seus índices de retenção com os de compostos conhecidos, obtidos por injeção de uma mistura de padrões contendo uma série homóloga de alcanos C<sub>7</sub>-C<sub>30</sub> e dados da literatura (ADAMS, 1995; NIST, 2010).

A análise por CG-DIC foi realizada num instrumento Shimadzu GC-2010 Plus (Kioto, Japão), com detector de ionização por chama (DIC), coluna CP-Sil 8 CB de fase estacionária metilpolissiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm; Varian Inc., Palo Alto, EUA), modo de injeção com divisão de fluxo de 1:50, durante toda a corrida (60,3 min), gás carreador nitrogênio com fluxo constante de 1,5 mL.min<sup>-1</sup>, temperatura do injetor 250°C, temperatura do detector 260°C. Programação do forno cromatográfico: temperatura inicial de 70°C com rampa de aquecimento de 4°C.min<sup>-1</sup> até 180°C por 27,5 min, seguida por rampa de aquecimento de 25°C.min<sup>-1</sup> até 250°C, nesta temperatura por 30 min. A contribuição de cada composto volátil na mistura foi dada pela área relativa (%) do seu respectivo pico no cromatograma registrado por DIC.

Nos ensaios de inibição do crescimento micelial foram testados 5 concentrações (0 µl mL<sup>-1</sup>, 0,5 µl mL<sup>-1</sup>, 1 µl mL<sup>-1</sup>, 1,5 µl mL<sup>-1</sup>, 2,0 µl mL<sup>-1</sup>) em 4 períodos (24, 48, 72, 96 horas) do óleo bruto de pinhão - manso (*Jatropha curcas* L.), negramina (*Siparuna guianensis* Aublet), eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill) seguindo a metodologia usada por Silva e

Bastos (2007). Como referência uma placa controle contendo os fungos desenvolvendo-se apenas no meio de cultura sem óleo e o controle positivo contendo 1,11  $\mu\text{L}/\text{mL}$  do fungicida APRON RFC<sup>®</sup> no meio cultura, segundo a dosagem sugerida na bula do fungicida que indicava uma concentração de 100 mL pra cada 100 kg de semente, sendo os valores ajustados para as condições do experimento.

Os óleos analisados foram inseridos em meio BDA (batata Agar dextrose) acrescido de 1% de tween 80 e vertidos em placas de 80 mm de diâmetro. Após solidificação do meio, discos de 5,0 mm de diâmetro contendo micélio do patógeno foram transferidos para o centro de cada placa que foram incubadas em estufa B.O.D a 28 °C por 4 dias. A cada 24 horas o crescimento micelial do patógeno foi avaliado através da medição do diâmetro da colônia (média de duas medidas diametralmente opostas com auxílio de um paquímetro).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 6 (doses) x 4 (tempos), com 3 repetições sendo as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se como instrumento estatístico o programa ASSISTAT versão 7.7 beta.

Foi avaliado o efeito da associação entre os óleos, obtendo-se assim três tratamentos constituídos de: eucalipto + negramina (associação 1), eucalipto + pinhão manso (associação 2) e pinhão-manso + negramina (associação 3) preparados na proporção de 1:1 como concentração inicial. Essas associações foram submetidas à seguidas diluições no meio de cultura obtendo-se concentrações de 0,0  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , 0,5  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , 1  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , 1,5  $\mu\text{L mL}^{-1}$  e 2,0  $\mu\text{L mL}^{-1}$  assim como os óleos isolados. Como referência foi utilizado uma placa controle contendo os fungos desenvolvendo-se apenas no meio de cultura sem óleo e o controle positivo contendo 1,11  $\mu\text{L mL}^{-1}$  do fungicida APRON RFC<sup>®</sup> no meio cultura. Os óleos analisados foram inseridos em meio BDA (batata Agar dextrose) acrescido de 1% de tween 80 fundente e vertidos em placas de 80 mm de diâmetro. Após solidificação do meio, discos de 5,0 mm de diâmetro contendo micélio do patógeno foram transferidos para o centro de cada placa que foram incubadas em estufa B.O.D a 28° C por 4 dias. A cada 24 horas o crescimento micelial do patógeno foi avaliado através da medição do diâmetro da colônia (média de duas medidas diametralmente opostas com auxílio de um paquímetro).

Para análise do tipo de interação apresentada pelas associações, utilizou-se como critério a

metodologia utilizada por Zhou et al. (2007) com modificações e adequações para crescimento de fungos filamentosos. Nesse método o efeito sinérgico ou antagonico das associações foram conceituados de acordo com as diferenças significativas submetido à análise de variância.

O delineamento experimental nos ensaios foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 (tratamentos) x 6 (doses) x 4 (tempos) comparando-se o desempenho das associações com os óleos isolados, sendo as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se como instrumento estatístico o programa ASSISTAT versão 7.7 beta.

## Resultados e discussão

Foi possível observar a atividade antifúngica dos óleos analisados em diferentes períodos de crescimento. A análise de variância (Tabela 1.) mostrou que as variações em função da dose e do tempo de avaliação e as interações entre eles foram significativas a 1% de probabilidade para os fitopatógenos *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*.

Observa-se que o óleo essencial de *Eucalyptus globulus* exerceu atividade inibitória sobre o *Rhizoctonia solani* nas concentrações de 1  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , 1,5  $\mu\text{L mL}^{-1}$  e 2  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , a partir de 24 h de crescimento inibindo todo o crescimento micelial do fungo, não apresentando diferença estatística com o tratamento com o fungicida comercial Apron RFC. O óleo essencial de *Siparuna guianensis* apresentou efeito sobre *Rhizoctonia solani* na concentração de 2  $\mu\text{L mL}^{-1}$  nos períodos de 24 h, 48 h e 72 h, já as concentrações de 1  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , 1,5  $\mu\text{L mL}^{-1}$  e 2  $\mu\text{L mL}^{-1}$  nos períodos de 48 h, 72 h e 96 h apesar de não demonstrarem a mesma eficiência que o princípio ativo comercial apresentaram ação inibitória sobre o fungo quando comparados com o tratamento contendo a concentração de 0  $\mu\text{L mL}^{-1}$  (Tabela 2.).

Quanto à ação inibitória no crescimento micelial do fungo *Rhizoctonia solani* sob efeito do óleo extraído da semente de Pinhão manso (*Jatropha curcas*) foi observado que o mesmo não apresentou atividade antifúngica sobre os patógenos.

O fungo *Rhizoctonia solani* é um fitopatógeno que afeta inúmeras culturas em todo o mundo. Estudos que relatam a fungitoxicidade de extratos e óleos essenciais de plantas sobre o fungo *R. solani*, como o de Santos et al. (2013) mostram que a utilização de tais compostos são promissores para o controle alternativo deste patógeno, já que é possível perceber a variação do crescimento do fungo.

No trabalho de Piaty et al. (2011), concentrações maiores que 2,5  $\mu\text{L mL}^{-1}$  do óleo de *Eucalyptus globulus* demonstraram efeito inibitório sobre *Penicillium* sp. um agente causal de doença pós-colheita em citros. Quando comparado com a atividade inibitória de outros óleos essenciais sobre *Rhizoctonia solani*, Pragadheesh et al. (2013) observaram completa inibição no crescimento desse fitopatógeno sob efeito do óleo essencial de *Ocimum canum* (manjerição).

Outros estudos também demonstram a ação

de óleos essenciais sobre *R. solani* e *S. rolfsii*. Benini et al. (2010) testaram concentrações de 20, 40 e 60  $\mu\text{L}$  do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* sobre esses patógenos, e observaram inibição total do crescimento dos fungos em todas as concentrações testadas. Hillen et al. (2012) relata que o óleo essencial de candeia (*Eremanthus erythropappus*) inibiu o crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* nas concentrações 20, 40, 60, 100, 200, 500 e 1000  $\mu\text{L}$  em 20 mL de meio.

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância do crescimento micelial (mm) de *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii* submetidos a diferentes concentrações de óleos avaliados em quatro épocas

<i>Rhizoctonia solani</i>				
<i>Eucalyptus globulus</i> <i>Siparuna guianensis</i> <i>Jatropha curcas</i>				
F.V	G.L. <sup>1</sup>	Q.M <sup>2</sup>	Q.M	Q.M
Doses (D)	5	2773,33**	2121,96**	1998,72**
Tempo (T)	3	561,26**	2856,69**	9699,62**
D x T	15	404,61**	293,09**	443,91**
Trat.	23	939,98**	1025,05**	1989,18**
Resíduo	48	5,91**	18,03**	86,18**
C.V		35,59%	27,13%	40,24%
<i>Sclerotium rolfsii</i>				
Doses (D)	5	3677,67**	3083,52**	4768,65**
Tempo (T)	3	1401,01**	10923,45**	11804,51**
D x T	15	480,48**	449,65**	487,67**
Trat.	23	1295,59**	2388,38**	2894,43**
Resíduo	48	5,82**	8,97**	9,79
C.V		22,89%	9,63%	7,77%

\*\*Significativo a 1% de probabilidade; <sup>1</sup>F.V: fonte de variação; G.L.: Grau de liberdade; <sup>2</sup>Q.M.: Quadrado médio; C.V: coeficiente de variação; Trat.: tratamento.

**Tabela 2.** Efeito in vitro dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Siparuna guianensis*, e do óleo de *Jatropha curcas* em diferentes concentrações sobre o crescimento micelial de *Rhizoctonia solani*, em diferentes períodos de avaliação

<i>Eucalyptus globulus</i>				
Concentração ( $\mu\text{L mL}^{-1}$ )	Tempo			
	24 h	48 h	72h	96 h
0,0	6.71 Ad	22.14 aC	50.86 aB	71.29 aA
0,5	0.00 Bb	0.00 bB	2.06 bB	10.87 bA
1,0	0.00 Ba	0.00 bA	0.00 bA	0.00 cA

Continua...

Continua...

Concentração ( $\mu\text{L mL}^{-1}$ )	Tempo			
	24 h	48 h	72h	96 h
1,5	0.00 bA	0.00 bA	0.00 bA	0.00 cA
2	0.00 bA	0.00 bA	0.00 bA	0.00 cA
Fungicida	0.00 bA	0.00 bA	0.00 bA	0.00 cA
<i>Siparuna guianensis</i>				
0,0	6.71 aD	22.14 aC	50.86 aB	71.29 aA
0,5	7.20 aC	16.27 abC	26.43 bB	40.53 bA
1,0	0.00 aC	8,70 bcBC	17.22 bcB	32.43 bA
1,5	0.00 aC	7,10 bcBC	14.53 cB	30.55 bA
2	0.00 aB	4.82 cB	4.12 dB	14.78 cA
Fungicida	0.00 aA	0.00 cA	0.00 dA	0.00 dA
<i>Jatropha curcas</i>				
0,0	6.71 aC	22.14 aC	50.86 aB	71.28 aA
0,5	0.00 aB	4.39 aB	18.33 bcB	56.85 aA
1,0	0.00 aC	15.26 aC	44.25 aB	66.16 aA
1,5	0.00 aC	7.75 aC	31.49 abB	60.00 aA
2,0	0.00 aC	4.38 aC	29.71 abB	64.12 aA
Fungicida <sup>1</sup>	0.00 aA	0.00 aA	0.00 cA	0.00 bA

<sup>1</sup>Apron RFC: 100 mL/100 kg

\*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si significativamente a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

As tabelas 2 e 3 revelam que o não houve diferença significativa no crescimento micelial dos fitopatógenos sob efeito do óleo extraído da semente de Pinhão manso (*Jatropha curcas*).

O óleo essencial de *Eucalyptus globulus* demonstrou ação inibitória sobre o crescimento micelial de *Sclerotium rolfsii* a partir da concentração de  $0,5 \mu\text{L mL}^{-1}$  em todos os tempos de avaliação onde nas concentrações de  $1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $1,5 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $2,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  o crescimento do fitopatógeno foi totalmente inibido nos períodos de 24 h, 48 h e 72 h. A concentração de  $2,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  foi a de maior ação fungicida, uma vez que impediu o desenvolvimento do fungo em todas os tempos testados obtendo resultados similares ao fungicida comercial (Tabela 3.).

O óleo essencial de *Siparuna guianensis* inibiu o crescimento micelial do fitopatógeno *Sclerotium*

*rolfsii* nas concentrações de  $1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $1,5 \mu\text{L mL}^{-1}$  e  $2,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  com 24 h de crescimento, contudo, a partir de 48 h de incubação foi possível observar o desenvolvimento do patógeno. Uma explicação para o não desenvolvimento do fungo no período 24 h pode ser o devido o tempo de adaptação do fungo ao meio com a presença do óleo, interferindo assim no seu tempo de crescimento. As concentrações de  $1,5 \mu\text{L mL}^{-1}$  e  $2,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  não inibiram totalmente o crescimento micelial do patógeno, no entanto, foi observado redução no seu crescimento quando comparados com a concentração  $0,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  (Tabela 3).

O óleo de *Jatropha curcas* não apresentou ação fungitóxica contra *S. rolfsii* e observando as doses de  $0,5 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $1,5 \mu\text{L mL}^{-1}$  e  $2,0 \mu\text{L mL}^{-1}$  nos períodos de 48 h e 72 h o diâmetro da colônia fúngica apresentou-se maior que na dose  $0,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ .

Outros trabalhos avaliaram a eficiência de óleos essenciais na inibição desse fitopatógeno. Benini et al. (2010) testaram doses de 20, 40 e 60 µL do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* sobre *S. rolfisii*, e observaram inibição total do crescimento dos fungos em todas as doses testadas.

Avaliando o efeito do óleo essencial de espécies de *Copaifera* sobre *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfisii*, Oliveira et al. (2006) demonstraram maior eficiência

desses extratos na redução do crescimento micelial sobre *Rhizoctonia solani*. A diferença dos constituintes da parede celular desses fitopatógenos podem admitir maior resistência do *Sclerotium rolfisii* aos tratamentos químicos que o *Rhizoctonia solani*, uma vez que, segundo Fukuda et al. (2009) a composição química da parede celular dos fungos é bastante complexa, constituída principalmente por polissacarídeos, ligados ou não a proteínas ou lipídeos, polifosfatos e íons inorgânicos formando a

**Tabela 3.** Efeito *in vitro* dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Siparuna guianensis*, e do óleo de *Jatropha curcas* em diferentes concentrações sobre o crescimento micelial de *Sclerotium rolfisii*, em diferentes períodos de avaliação

<i>Eucalyptus globulus</i>				
Concentração (µL.mL <sup>-1</sup> )	Tempo			
	24 h	48 h	72h	96 h
0,0	8.17 aD	30.83 Ac	57.83 aB	79.33 aA
0,5	0.00 bD	7.16 bC	18.33 bB	38.33 bA
1,0	0.00 bB	0.00 cB	0.00 cB	8.00 cA
1,5	0.00 bA	0.00 cA	0.00 cA	5.16 cdA
2	0.00 bA	0.00 cA	0.00 cA	0.00 dA
Fungicida	0.00 bA	0.00 cA	0.00 cA	0.00 dA
<i>Siparuna guianensis</i>				
0,0	8.16 aD	30.83 aC	57.83 aB	79.33 aA
0,5	5.66 abD	28.50 abC	57.50 aB	73.33 abA
1,0	0.00 bD	24.91abC	52.50 abB	71.66 bcA
1,5	0.00 bD	21.33 bcC	49.66 bcB	64.75 cdA
2	0.00 bD	17.50 cC	44.16 cB	58.83 dA
Fungicida	0.00 bA	0.00 dA	0.00 dA	0.00 eA
<i>Jatropha curcas</i>				
0,0	8.16 aD	30.83 bC	57.83 cB	79.33 aA
0,5	9.33 aD	34.16 abC	62.66 bcB	77.33 aA
1,0	13.00 aD	39.33 aD	68.33 abB	80.00 aA
1,5	12.66 aC	40.25 aB	73.50 aA	80.00 aA
2,0	11.16 aD	38.33 abC	70.20 abB	80.00 aA
Fungicida <sup>1</sup>	0.00 bA	0.00 cA	0.00 dA	0.00 bA

<sup>1</sup>Apron RFC: 100 mL/100 kg

\*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si significativamente a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

matriz de cimentação. Tendo também quitina, glucanas, galactomananas, manoses e proteínas como compostos mais frequentes, embora suas quantidades variem entre as diferentes espécies de fungos.

As análises cromatográficas permitiram a identificação de 20 componentes químicos do óleo essencial obtidos das folhas *Siparuna guianensis* Aublet, seguidos pelos índices de Kovats e seus teores expressos em porcentagem (calculados por normalização de áreas) que estão dispostos na Tabela 4.

A identificação da composição química de extratos naturais é uma importante ferramenta na prospecção de novos produtos (Lorenzetti et al., 2011). As análises cromatográficas, realizada nesse trabalho, mostraram que o óleo essencial de *Siparuna guianensis* possui em sua composição uma predominância do monoterpene  $\beta$ -mirceno (74,93%) e 2-undecanona (9,58). De acordo com Valentini

(2010), a composição dos óleos essenciais da *Siparuna guianensis* Aublet sofre alterações de acordo com a região ou até com as estações do ano. Na composição química do óleo essencial dessa espécie, foram encontrados monoterpene, sesquiterpene, álcoois sesquiterpene e duas cetona alifáticas, 2-undecanona e 2-tridecanona. O  $\alpha$ -pineno, mirceno,  $\gamma$ -cadineno, epi- $\alpha$ -cadinol estavam presentes em todas as amostras, mas o epi- $\alpha$ -cadinol (39,9%) foi sempre o maior componente, exceto para óleos das cascas e frutos, cujos maiores componentes foram respectivamente terpinoleno (33,4%) e 2-undecanona (52,7%).

Ainda quanto à função dos constituintes da planta, a presença de mirceno pode estar relacionada às propriedades medicinais contidas na mesma (Silva et al., 2006). O mirceno é um monoterpene encontrado em muitos óleos essenciais exercendo importante papel na atividade expressada pelo óleo das folhas, além

**Tabela 4.** Composição química do óleo essencial de Negramina (valores expressos em percentual proporcional da área)

Componentes	IK <sup>1</sup>	% (CG/DIC)
Santolina trieno	926,3	t <sup>2</sup>
$\alpha$ -pineno	939,0	0,40
Campheno	956,6	0,11
$\beta$ -pineno	984,0	0,17
$\beta$ -mirceno	990,0	74,93
D-limoneno	1034,0	0,66
$\beta$ -ocimeno	1049,6	0,56
Terpinoleno	1089,0	0,15
2-Undecanona	1293,0	9,58
$\alpha$ -copaeno	1375,0	0,19
$\beta$ -elemeno	1388,3	0,41
$\beta$ -cariofileno	1418,0	0,29
Germacreno D	1480,0	0,82
Biciclo-germacreno	1493,0	1,52
Germacreno A	1504,6	0,37
$\gamma$ -cadineno	1515,6	0,12
Germacreno B	1556,6	0,15
Espatuleno	1574,3	0,36
Epi- $\alpha$ -cadinol	1644,3	0,25
$\alpha$ -cadinol	1653,3	0,19
<b>Total identificado</b>		<b>91,22</b>

<sup>1</sup>Índices de Kovats calculados.

<sup>2</sup>t - Quantidades traços (<0,1%).



disso, a ação sinérgica associada à outros componentes químicos presentes no óleo essencial não deve ser desprezada, normalmente os efeitos sinérgicos podem ser observados facilmente em compostos fenólicos e não fenólicos (Santos et al., 2008).

A atividade fungitóxica dos óleos essenciais que inibem ou reduzem o crescimento micelial, se dá devido à ação das substâncias presentes em sua composição (Tabela 5.), onde esses compostos podem afetar a integridade das membranas celulares, causando o derramamento do conteúdo celular (Pereira

et al., 2011). Pesquisas descrevem a completa supressão do crescimento de *R. solani* pelo monoterpeno fenólico, carvacrol, a uma concentração de 100 mg.mL<sup>-1</sup> e pelo seu isômero estrutural, timol, a uma concentração ligeiramente mais elevada (150 mg.mL<sup>-1</sup>).

A análise obtida por cromatografia relatado no trabalho de Macedo et al. (2009) indicou os principais constituintes e concentrações encontrados no óleo essencial de *Eucalyptus globulus*, onde entre esses compostos destacaram-se a presença do  $\alpha$ -pineno (4,15%), o-cimeno (2,93%), (+) -limoneno (8,16%), e

**Tabela 5.** Principais constituintes químicos encontrados nos óleos essenciais de *Siparuna guianensis*, *Eucalyptus globulus* e no óleo fixo da semente de *Jatropha curcas*

Planta	Principais Componentes	Referências
<i>Siparuna guianensis</i> Aublet	2-undecanona, humuleno, óxido cariofileno, espatulenol, aromadendreno, siparunona, acetato de di-hidrocarvil, dióxido de limoneno, ledol, viridiflorol, ácido 1,2 benzenodioico, $\alpha$ -pineno, $\beta$ -micerno, $\alpha$ -terpineno, $\alpha$ -terpinoleno, $\alpha$ -bisaboleno, $\beta$ -bisaboleno, $\gamma$ -bisaboleno, $\alpha$ -bisabolol,	Valentini et al., 2010. Montanari, 2010.
<i>Jatropha curcas</i> L.	Ácido mirístico, ácido palmítico, ácido palmitoléico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido araquídico, ácido eicosenoico, ácido beénico, ácido lignocérico.	Sarin et al., 2007.
<i>Eucalyptus globulus</i>	$\alpha$ -pineno, o-cimeno, limoneno, eucaliptol e $\gamma$ -terpineno, $\alpha$ -tuhujene, 3-careno, canfeno, trns-thujenol, $\beta$ -felandreno, $\beta$ -pireno, $\beta$ -mierceno, $\alpha$ -felandreno, linalool, p-menth-2-en-1-ol, terpinen-4-ol, cruptone, 4-careno, citral, espatulenol, isoborneol	Macedo et al., 2009.

$\gamma$ -terpineno (0,87%), tendo o eucaliptol (1,8 cineol) (83,89%) como componente marjoritário. Os constituintes que incidem com mais frequência em óleos essenciais manifestando elevada atividade antifúngica são: D -limoneno, cineol,  $\alpha$  -pineno,  $\beta$  -pineno,  $\beta$  - mirceno e cânfora (Martinez, 2012). Assim o efeito inibitório encontrado neste trabalho pelo óleo de *Eucalyptus globulus* pode ser explicado pela presença de compostos com conhecido efeito antifúngico presente em sua composição química.

Isoladamente, cada óleo essencial apresenta diversos compostos, e quando dois óleos são combinados, a interação entre as diversas substâncias químicas pode provocar sinergismo ou efeitos

antagônicos (ANDRADE et al., 2014).

Existem poucos relatos sobre mecanismos de ação da combinação de óleos essenciais assim como o efeito dessas associações em fungos filamentosos.

Na tabela 6 observa-se o efeito das associações sobre o crescimento micelial do fungo *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. Onde as diferenças estatísticas encontradas entre os tratamento com óleos isolados e a combinação dos mesmos indicam o possível tipo de interação entre seus componentes.

Observa-se que o efeito dos óleos combinados na proporção de 1:1 disposto na concentração de 0,5  $\mu$ l mL<sup>-1</sup> não apresentou nenhum efeito sinérgico, podendo-se notar uma interação antagônica nas

associações 1 e 3 justificada pelo aumento do crescimento micelial do *Rhizoctonia solani*.

Já em relação ao fitopatógeno *Sclerotium rolfsii* apesar de não apresentar sinergismo, observa-se que na associação 1 e 2 há diferença significativa no diâmetro de crescimento do fungo, denotando melhor atividade inibitória que os óleos isolados de *S. guianensis* e *J. curcas*, respectivamente. Tal efeito pode ser explicado pela presença do óleo de *E. globulus* que isoladamente mostrou-se mais efetivo na redução do crescimento micelial do fungo.

Buscando a associação mais efetiva na inibição do crescimento micelial dos fitopatógenos, as associações 1 e 2 nas concentrações 1,5 µl/ mL e 2 µl/ mL exibiram efeito similar ao fungicida comercial.

Em muitos casos a atividade resulta de uma

interação complexa entre as diferentes classes de compostos, tais como éteres, aldeídos, cetonas, álcoois, ésteres, éteres ou hidrocarbonetos encontrados nos óleos essenciais (BASSOLÉ e JULIANI, 2012).

A competição de várias substâncias por uma mesma molécula alvo pode resultar em atividade antagonista, diminuindo o efeito antibiótico dos óleos essenciais misturados em grandes proporções (D'ARRIGO et al., 2010).

Diversos trabalhos descrevem o efeitos de óleos essenciais e outros extratos naturais no controle de doenças de plantas, no entanto, observa-se que não há um padrão quanto à metodologia adotada o que dificulta a comparação dos resultados assim como sua discussão.

**Tabela 6.** Comparação das medias dos halos de inibição (mm) obtidos para os óleos sozinhos em relação às combinações sobre o crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*

<i>Rhizoctonia solani</i>						
Óleo	0	0,5	1,0	1,5	2,0	Fung <sup>1</sup>
	(µl.mL <sup>-1</sup> )					
<i>E. globulus</i>	43.00 aA	3.23 cB	0.00 cB	0.00 bB	0.00 bB	0.00 aB
<i>S. guianensis</i>	43.00 aA	22.61 bB	14.58 aC	13.04 aC	5.93 aD	0.00 aE
Assoc. 1(1:1)	43.00 aA	26.35 aB	5.00 bC	0.00 bD	0.00 bD	0.00 aD
<i>E. globulus</i>	43.00 aA	3.23 bB	0.00 cB	0.00 bB	0.00 bB	0.00 aB
<i>J. curcas</i>	43.00 aA	19.89 aC	31.42 aB	24.81 aBC	24.55 aBC	0.00 aD
Assoc. 2(1:1)	43.00 aA	25.87 aB	10.25 bC	0.00 bD	0.00 bD	0.00 aD
<i>S. guianensis</i>	43.00 aA	22.61 bB	14.58 cC	13.04 cCD	5.93 cDE	0.00 aE
<i>J. curcas</i>	43.00 aA	19.89 bC	31.42 bB	24.81 bBC	24.55 bBC	0.00 aD
Assoc. 3(1:1)	43.00 aB	60.75 aA	58.33 aA	56.70 aA	46.41 aB	0.00 aC
Óleo	<i>Sclerotium rolfsii</i>					
<i>E. globulus</i>	41.04 aA	15.95 cB	2.00 cC	1.29 bC	0.00 bC	0.00 aC
<i>S. guianensis</i>	41.04 aA	41.25 aA	37.27 aB	33.93 aB	30.12 aC	0.00 aD
Assoc. 1(1:1)	41.04 aA	33.54 bB	20.70 bC	0.00 bD	0.00 bD	0.00 aD
<i>E. globulus</i>	41.04 aA	15.95 cB	2.00 cC	1.29 cC	0.00 bC	0.00 aC
<i>J. curcas</i>	41.04 aC	45.87 aB	50.16 aA	51.60 aA	49.92 aA	0.00 aD
Assoc. 2(1:1)	41.04 aA	29.02 bB	20.56 bD	6.00 bD	2.37 bDE	0.00 aE
<i>S. guianensis</i>	41.04 aA	41.25 bA	37.27 bB	33.93 bB	30.12 bC	0.00 aD
<i>J. curcas</i>	41.04 aC	45.87 aB	50.16 aA	51.60 aA	49.92 aA	0.00 aD
Assoc. 3(1:1)	41.04 aA	40.37 bA	26.39 cD	35.56 Bb	30.52 bC	0.00 aE

1 Fung: Fungicida Apron RFC: 100 mL/100 kg

\*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si significativamente a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

## Conclusões

O óleo essencial de *Eucalyptus globulus* inibiu totalmente o crescimento micelial de *R. solani* nas doses de 1,0  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , 1,5  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , 2,0  $\mu\text{L mL}^{-1}$  em todos os períodos de avaliações. Para *S. rolfsii* a concentração de 2,0  $\mu\text{L mL}^{-1}$  inibiu o crescimento micelial do fitopatógeno em todos os tempos.

O óleo de *Siparuna guianensis* possui como

componente majoritário o mirceno, e as concentrações de 1,5  $\mu\text{L mL}^{-1}$  e 2,0  $\mu\text{L mL}^{-1}$  reduziram o crescimento dos fungos *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*.

O óleo de *Jatropha curcas* não apresentou atividade antifúngica sobre os fitopatógenos testados.

As associações 1 e 2 nas concentrações 1,5  $\mu\text{L mL}^{-1}$  e 2,0  $\mu\text{L mL}^{-1}$  inibiram totalmente o crescimento micelial dos fitopatógenos.

## Referências

- ANDRADE, B. F. M. T.; BARBOSA, L. N.; PROBST, I. S.; FERNANDES JÚNIOR, A. Antimicrobial activity of essential oils. **The Journal of Essential Oil Research**, v. 26, n. 4, p. 34-40, 2014. DOI:10.1080/10412905.2013.860409
- BASSOLÉ, I. H. N.; JULIANI, H. R. Essential Oils in Combination and Their Antimicrobial Properties. **Molecules**, v. 17, n. 2, p. 3989-4006, 2012. DOI:10.3390/molecules17043989
- BENINI, P. C.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; KLAIS, E. C.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; MESQUINE, R. M.; STANGARLIN, J. R.; TOLENTINO JÚNIOR, J. B. Efeito *in vitro* do óleo essencial e extrato aquoso de *Ocimum gratissimum* colhido nas quatro estações do ano sobre fitopatógenos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 4, p. 677-683, 2010
- CARNELOSSI, P. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; MESQUINI, R. M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 4, p. 399-406, 2009. DOI: 10.1590/S1516-05722009000400007.
- D'ARRIGO, M.; GINESTRA, G.; MANDALARI, G.; FURNERI, P. M.; BISIGNANO, G. Synergism and postantibiotic effect of tobramycin and Melaleuca alternifolia (tea tree) oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Phytomedicine**, v. 17, n. 5, p. 317-322, 2010. DOI:10.1016/j.phymed.2009.07.008
- FRANZ, C. M. Essential oil research: past, present and future. **Flavour Fragrance Journal**, v. 25, n. 3, p. 112-113, 2010. DOI: 10.1002/ffj.1983
- FUKUDA, E. K.; VASCONCELOS, A. F. D.; MATIAS, A. C.; BARBOSA, A. M.; DEKKER, R. F. H.; SILVA, M. L. C. Polissacarídeos de parede celular fúngica: Purificação e Caracterização. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 1, p. 117-134, 2009. DOI:10.5433/1679-0359.2009v30n1p117
- HILLEN, T. SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; MESQUINI, R. M.; CRUZ, M. E. S.; STANGARLIN, J. R.; NOZAKI, M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle de alguns fitopatógenos fúngicos *in vitro* e no tratamento de sementes. **Revista brasileira plantas mediciniais**, v. 14, n. 3, p. 439-445, 2012. DOI:10.1590/S1516-05722012000300003
- LORENZETTI, E. R.; MONTEIRO, F. P.; SOUZA, P. E.; SOUZA, R. J.; SCALICE, H. K.; DIOGO JR, R.; PIRES, M. S. O. Bioatividade de óleos essenciais no controle de *Botrytis cinerea* isolado de morangueiro. **Revista brasileira plantas mediciniais**, v. 13, n. especial, p. 619-62, 2011. DOI:10.1590/S1516-05722011000500019
- MACEDO, I. T. F.; BEVILAQUA, C. M. L.; OLIVEIRA, L. M. B.; CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F.; VIEIRA, L. S.; OLIVEIRA, F. R.; QUEIROZ-JUNIOR, E.; PORTELA, B. G.; BARROS R. S.; CHAGAS, A. C. S. Atividade ovicida e larvicida *in vitro* do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Haemonchus contortus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 3, p. 62-66, 2009. DOI:10.4322/rbvpv.01803011
- MARTINEZ, J. A. **Natural fungicides obtained from plants**. In: DHANASEKARAN, D.; THAJUDDIN, N.; PANNERSELVAM, A. (Ed.). *Fungicides for plant and animal diseases*. 3.ed. Patancheru: Instituto Internacional de Pesquisa em Cultivos para o Trópico Semi-árido (ICRISAT), 1993. p. 680-691.
- OLIVEIRA, E. C. P.; LAMEIRA, O. A.; BARROS, P. L. C.; POLTRONIERI, L. S. Avaliação do óleo de copaíba (*Copaifera* spp) na inibição do crescimento micelial *in vitro* de fitopatógenos. **Ciências Agrárias**, n.46, v.1, p.53-63, 2006
- PEREIRA, C. S. S.; PESSOA, F. L. P.; MENDONÇA, S.; RIBEIRO, J. A. A.; MENDES, M. F. Technical and Economic Evaluation of Phorbol Esters Extraction from *Jatropha Curcas* Seed Cake using Supercritical Carbon Dioxide. **American Journal of Biomass and Bioenergy**, v. 5, n. 2, p. 65-80, 2016. DOI:10.7726/ajbb.2016.1006

- PEREIRA, R. B.; LUCAS, G. C.; PERINA, F. J.; RESENDE, M. L. V.; ALVES, E. Potential of essential oils for the control of brown eye spot in coffee plants. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 1, p. 115-123, 2011. DOI:10.1590/S1413-70542011000100014
- PIATI, A.; SCHNEIDER, C. F.; NOZAKI, M. H. Efeito in vitro do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre o crescimento e desenvolvimento de *Penicillium* sp. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 3, p. 1033-1040, 2011. DOI:10.5433/1679-0359.2011v32n3p1033
- PRAGADHEESH, V. S.; YADAV, A.; SINGH, M.; CHANOTIYA, C. S. Characterization of volatile components of Zingiber roseum essential oil using capillary GC on modified cyclodextrins. **Natural product communications**, v. 8, n. 2, p. 221-224, 2013.
- SANTOS, G. R.; BRUM, R. B. C. S.; CASTRO, H. G.; GONÇALVES, C. G.; FIDELIS, R. R. Effect of essential oils of medicinal plants on leaf blotch in Tanzania grass. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, p. 587-593, 2013. DOI: 10.1590/S1806-66902013000300022
- SANTOS, R. P.; TREVISAN, M. T. S.; SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O. P.; MELO, V. M. M. Composição química e atividade biológica das folhas e frutos de *Triphasia trifolia*. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 53-58, 2008. DOI:10.1590/S0100-40422008000100011
- SANTOS, A. C.; ROSSATO, M.; SERAFINO, L. A.; BRUNO, M.; CRIPPA, L. B.; SARTORI, V. C.; DELLACASSA, E.; MOYNA, P. Efeito fungicida dos óleos de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Roddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul. **Revista brasileira de farmacologia**, v. 20, n. 2, p. 154-159, 2010. DOI:10.1590/S0102-695X2010000200003.
- SILVA, D. M. H.; BASTOS, C. N. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de Piper sobre Crinipellis pernicioso, Phytophthora palmivora e Phytophthora capsici. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 143-145, 2007. DOI:10.1590/S0100-41582007000200008
- SILVA, P. **Farmacologia**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 301p.
- SILVA, P. H. M.; BRITO, J. O.; SILVA JUNIOR, F. G. Potencial of eleven *Eucalyptus species* for the production of essential oils. **Scientia Agricola**, v. 63, n. 1, p. 85-89, 2006. DOI:10.1590/S0103-90162006000100014
- VALENTINI, C. M. A.; RODRIGUEZ-ORTIZ, C. E.; COELHO, M. F. B. Siparuna guianensis Aublet (negramina): uma revisão. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 12, n. 1, p. 96-104, 2010. DOI:10.1590/S1516-05722010000100014
- ZHOU, F.; JI, B.; ZHANG, H.; JIANG, H.; YANG, Z.; LI, Z.; LI, J.; YAN, W. The antibacterial effect of cinnamaldehyde, thymol, carvacrol and their combinations against the foodborne pathogen *Salmonella typhimurium*. **Journal of food safety**, v. 27, p. 124-133, 2007. DOI:10.1111/j.1745-4565.2007.00064.x